



DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

**El Hipotiroidismo Congénito en Nicaragua:
Evaluación del programa de cribado neonatal de la enfermedad (2005-2015), su
etiología genética y la influencia ambiental por deficiencia de yodo.**

TESIS DOCTORAL

Aura Fúnez Ríos

Madrid, 2017

Departamento de Bioquímica
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

El Hipotiroidismo Congénito en Nicaragua:
Evaluación del programa de cribado neonatal de la enfermedad (2005-2015), su etiología
genética y la influencia ambiental por deficiencia de yodo.

Memoria que presenta la licenciada en Ciencias Químicas Aura Fúnez Ríos para optar al grado
de Doctor por la Universidad Autónoma de Madrid

Directores:

Dr. José C. Moreno, MD, PhD
Laboratorio Molecular de Tiroides.
Instituto de Genética Médica y Molecular
Hospital Universitario La Paz.

Dr. Eladio Montoya Melgar, MD, PhD.
Departamento de biología en sistema
Facultad de Medicina, Universidad de
Alcalá, Alcalá de Henares.

Laboratorio Molecular de Tiroides, Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital
Universitario La paz, Madrid

José Carlos Moreno Navarro, Doctor en Medicina y Director del Laboratorio Molecular de Tiroides, Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Eladio Montoya Melgar, Doctor en Medicina y Catedrático Emérito del Departamento de Biología de Sistemas de la Universidad de Alcalá

CERTIFICAN: Que Aura Fúnez Ríos, Licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua en León Nicaragua, y Máster por la Universidad de Valencia, Valencia, España, ha realizado bajo su dirección el trabajo de investigación titulado.

El Hipotiroidismo congénito en Nicaragua: evaluación del programa de cribado neonatal de la enfermedad (2005-2015), su etiología genética y la influencia ambiental por deficiencia de yodo.

Los que suscriben consideran el trabajo realizado satisfactorio y apto para ser presentado como Tesis Doctoral en el Departamento de Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid.

Y para que conste donde proceda expiden el presente certificado en Madrid a 20 de junio 2017

Fdo. José Carlos Moreno Navarro

Fdo. Eladio Montoya Melgar

Dedico este trabajo de tesis a mis padres, Gerardo y Cristina, que no lograron ver culminado este esfuerzo, más de ellos que mío, por haberme inculcado la responsabilidad y perseverancia, para alcanzar cada uno de los logros en mi vida profesional.

A mi hijo Javier y a mi esposo Enrique, por haberme permitido el tiempo dedicado a esta tesis, por su apoyo y consejos en los momentos difíciles de esta tarea.

A mis directores de Tesis, los Doctores José Carlos Moreno y Eladio Montoya. Gracias por todos sus consejos, su ayuda y paciencia. El llegar aquí ha sido, también, producto de sus conocimientos y buena ciencia. Gracias por haber aceptado dirigir esta tesis

A los miembros del equipo del programa de cribado neonatal, Efrén, María Eugenia y Cecilia de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, ya que estos resultados no se hubieran logrado sin su apoyo.

A los miembros del equipo de apoyo en el programa de cribado neonatal de la colaboración de España, Eladio Montoya y Josefa Toro del Departamento de Biología de Sistemas de la Facultad de Medicina Universidad de Alcalá, Salvador Perán del Laboratorio de hormonas, Hospital Universitario Carlos Haya, Malaga, España.

A todos los médicos y enfermeras de cada uno de los hospitales que participaron en la toma de muestras a los niños cribados durante el periodo del estudio.

A Karla, Ingrid, Jency y en especial Ana Julia del laboratorio centralizado de Bioquímica Clínica de la UNAN-León, por su apoyo con el control de calidad y análisis de las muestras de los niños cribados.

A la Radióloga Glenda Boza por haberme apoyado con la realización de las ecografías de los niños con HC.

A Edwing, Junieth, Isamar, Shantel, Nancy y Yahosca por haberme ayudado a la toma de muestra de orina de los escolares, gestantes y sangre del cordón de los neonatos

A las gestantes, niños escolares y sus padres por consentir participar en éste estudio.

A Mercedes Tanarro, Ainhoa Iglesia, Martha García, Paula Jiménez y Tamara de Laboratorio Molecular de Tiroides, Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario La Paz,

Madrid, por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio para la realización del estudio genético de los niños.

A los Dres. J. Miguel Rodríguez-Frade, Leonor Kremer y Mario Mellado del Centro Nacional de Biotecnología (Madrid, España), por habernos cedido los anticuerpos monoclonales y por la orientación y facilidades en el establecimiento del ELISA para TSH en manchas de sangre.

A la Doctora Elena Dulín Coordinadora de la Unidad de Cribado Neonatal de la Comunidad de Madrid (Hospital Universitario Gregorio Marañón y al Doctor José Luís Marín Coordinador de la Unidad de Cribado Neonatal de Cataluña (Hospital Clínic de Barcelona) por habernos proporcionado los estándares y controles para el ELISA de TSH.

Al personal de Servicio de Análisis del Departamento de Productos Alimentarios del Centro de Investigación y Control de la Calidad (CICC) de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN), por haberme apoyado en el análisis de las muestras de sal de consumo.

A Indina López, bioestadística de la Universidad de León, por apoyarme con los análisis estadísticos.

A Miriam, primera niña detectada en el programa y a todos los diagnosticados posteriormente y a sus padres por haber permitido la realización del estudio genético.

A todos les agradezco con mucha satisfacción.

Resumen

El cribado neonatal para Hipotiroidismo congénito (HC) se inició en Nicaragua en el año 2005 como un proyecto de colaboración entre las Universidades de Alcalá y la Nacional Autónoma de Nicaragua en León (Nicaragua). El programa ha llegado a cubrir 10 provincias de las 17 que constituyen el estado nicaragüense. En esta memoria de tesis doctoral se describe la evaluación del programa después de 11 años de experiencia de cribado, (2005-2015), la etiología molecular del HC de los niños detectados y la relación con los factores ambientales como la deficiencia de yodo.

Durante el período de 10 años se cribaron un total de 271969 neonatos, se logró una cobertura de 71% en las provincias que se acogieron, con un valor predictivo positivo de 83% y una tasa de reexaminados del 63%. Se diagnosticaron 80 niños con HC obteniendo una prevalencia de 1:3399 en las provincias participantes. Los niños diagnosticados con HC en un porcentaje alto presentaron un HC grave, probablemente por la falta de inicio de tratamiento temprano.

Se identificaron mutaciones en 12 pacientes de 11 familias de la cohorte (29%) en los genes que codifican el receptor de TSH (TSHR) (en 1 paciente), y la Tiroperoxidasa (TPO) (en 11 pacientes). Dentro de las mutaciones causantes de dismbionogénesis se encontró una mutación en *TSHR* que no había sido descrita previamente (p. C398G) y de las causantes de dishormonogénesis se encontraron cuatro mutaciones en TPO, dos de ellas descritas previamente (p.N425S, p.G860R) y dos no (p.L391P p.T321N). La mutación más frecuente del gen TPO fue (p.N425S) encontrada en 9 pacientes. Las familias de los pacientes con estas mutaciones presentaron un alto nivel de consanguinidad (6 de 11: 54%).

La mediana de la concentración de yodo en orina de los niños escolares fue de 33 µg/l y en las mujeres embarazadas de 62 µg/l. La TSH en sangre de cordón umbilical fue superior a 5mU/l en más del 3% de los recién nacidos cribados. Al correlacionar las yodurias de las madres con parámetros tiroideos de los neonatos (TSH y Tg) se encontró una correlación estadísticamente significativa. Tanto la baja excreción de yodo en niños y mujeres embarazadas como el número de recién nacidos con niveles elevados de TSH y Tg son indicativos de la existencia de un grado de leve-moderado de deficiencia nutricional de yodo en las provincias de Nicaragua incluidas en este estudio, lo que concuerda con el 45% de las muestras de sal yodado encontrados por debajo del límite adecuado.

Abstrac

Neonatal screening for congenital hypothyroidism (HC) started in Nicaragua in 2005 as a collaborative project between the University of Alcalá in Alcalá de Henares, Madrid, Spain and the National Autonomous University of Nicaragua in León, Nicaragua. In the present doctoral dissertation an evaluation of the program was achieved after 11 years of screening experience (2005-2015), as well as the study of the molecular diagnostic of the children detected to have congenital hypothyroidism and the possible influence of iodine deficiency in the Nicaraguan population.

A total of 271969 newborns belonging to 10 provinces covered by the program were screened, from a total of 17. The province's coverage was of 71% with a positive predictive value of 83% and a recall rate of 63%. Eighty children with HC were diagnosed (prevalence of 1: 3399 in the participating provinces). Children diagnosed with HC had severe HC in a high percentage, probably due to the lack of early treatment.

Mutations were identified in 12 patients from 11 families (29%), in the genes encoding the TSH receptor (TSHR) (1 patient) and the TPO (11 patients). Concerning the mutations that cause dysgenesis we found one mutation in the gene *TSHR*, non-previously described (p. C398G) and the mutation that cause dyshormonogenesis we found four mutations in *TPO* gene, two previously described (p.N425S, p.G860R) and two new (p.L391P p.T321N). Among the mutations responsible for dyshormonogenesis the most frequent in the *TPO* gene was (p.N425S). A high degree of parents of children with CH consanguineous were found, (6 of 11: 54%). The iodine median concentration in urine was of 33 µg/l in children and 62 µg/l in pregnant women. Cord blood TSH was higher than 5 mU/l in more than a 3% of the screened newborns. A statistically significant correlation was found between the mother's iodine concentrate and thyroid parameters of their newborns (TSH and Tg). Both the low iodine excretion in children and pregnant women and the number of newborns with elevated levels of TSH and Tg are indicative of the existence of a leve-moderate degree of iodine nutritional deficiency in the provinces of Nicaragua included in this study. Which is consistent with 45% of the iodized salt samples found below the appropriate limit.

INDICE

I INTRODUCCION.....	1
1 Hipotiroidismo congénito.....	3
1.1 Cribado del Hipotiroidismo congénito.....	4
1.2 Cribado del Hipotiroidismo congénito a nivel global.....	5
1.3 Cribado del Hipotiroidismo congénito en Latino América.....	5
1.4 Técnica empleadas para el cribado de hipotiroidismo congénito..	6
1.5 Confirmación diagnóstica.....	7
2 Etiología y clasificación.....	8
2.1 Fundamentos moleculares de la función tiroidea.....	9
3 Genes implicados en el hipotiroidismo congénito.....	13
4 Síntesis de hormonas tiroideas.....	14
5 Deficiencia de yodo.....	16
5.1 Absorción intestinal del yodo.....	17
5.2 Requerimientos diario de yodo.....	18
5.3 Papel de la placenta y etapa fetal.....	18
5.4 Situación nutricional de yodo en el mundo.....	19
5.5 Situación nutricional de yodo en América.....	19
5.6 Situación nutricional de yodo y yodación de la sal en Latinoamérica	20
5.7 Situación nutricional de yodo en América central.....	21
5.8 Situación nutricional de yodo en Nicaragua.....	22
6 Indicadores de nutrición de yodo según criterio de la OMS.....	22
6.1 Concentración de yodo en Orina	22
6.2 Tamaño del tirodes.....	23
6.3 Concentración de TSH neonatal.....	24
6.4 Concentración de Tg.....	24
6.5 Otros factores ambientales y nutricionales en la deficiencia de yodo	25
II OBJETIVOS.....	27
III MATERIALES Y METODOS.....	29
1. Diseño y población de estudio.....	30
2. Recolección de datos.....	30
3. Determinación de TSH.....	31
4. Hormonas tiroideas: confirmación de los casos sospechosos	32
5. Clasificación de la gravedad del HC.....	33
6. Análisis del desarrollo del programa de cribado del Hipotiroidismo congénito de Nicaragua.....	34
7. Análisis molecular.....	35
8. Ecografía tiroidea.....	35
9. Determinación del estado nutricional de yodo.....	35

10. Valoración de la función tiroidea.....	36
11. Análisis estadístico.....	36
12. Consideraciones éticas.....	36
IV RESULTADOS.....	39
Estudio I Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito en Nicaragua: evaluación de un programa con 10 años de experiencia (2005-2015).....	40
1. Cobertura y valor predictivo positivo del programa de detección e Incidencia del HC en Nicaragua.....	40
2. Sensibilidad del programa de cribado para casos de HC moderado.....	41
3. Clasificación de la gravedad del HC.....	43
4. Tiempo de diagnóstico e inicio de tratamiento de los niños Con HC.....	45
Estudio II. Clasificación etiológica y caracterización molecular Hipotiroidismo congénito de niños diagnosticados en Nicaragua en 2005-2015.....	47
1. Características hormonales y ecográficas de los pacientes.....	46
2. Estudio genético.....	48
3. Relación de la concentración de Tg, T4 y TSH sérica en los pacientes Con mutaciones en el gen TPO.....	54
Estudio III. Evaluación del estado nutricional del yodo en mujeres embarazadas, recién nacidos y niños en Nicaragua mediante medición de yodo en orina, tiroglobulina y tirotropina en sangre de cordón umbilical.....	59
1. Concentración de yodo en orina en escolares y gestantes.....	58
2. Concentración de TSH en eluato de sangre de cordón umbilical de neonatos del cribado durante el periodo 2005- 2015.....	59
3. Concentración de TSH y Tg en el suero del cordón de 201 neonatos Del cribado durante el año 2015.....	60
4. Relación entre las yodurias de las madres y la TSH y Tg de sus Neonatos.....	60
V Discusión.....	66
Estudio I Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito en Nicaragua: evaluación de un programa con 10 años de experiencia	65
Estudio II. Clasificación etiológica y caracterización molecular Hipotiroidismo congénito de niños diagnosticados en Nicaragua en 2005-2015.....	68
Estudio III. Evaluación del estado nutricional del yodo en mujeres	

embarazadas, recién nacidos y niños en Nicaragua mediante.....	74
medición de yodo en orina, tiroglobulina y tirotropina en sangre de cordón umbilical	
VII conclusión.....	81
VII Bibliografía.....	84
Anexos.....	99

Ac	Anticuerpo(s).
Ac antiTSH	Anticuerpos antitsh.
AcTg	Anticuerpos antitiroglobulina.
AcTPO	Anticuerpos antiperoxidasa.
CUI	Concentración urinaria de yodo o yoduria.
CV	Cociente de variación.
D1, D2, D3	Desyodasas 1,2 y 3
DEHAL	Deshalogenasa
DIT	Diyodotirosina.
DT	Desviación típica.
DUOX2	Oxidasa dual 2
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> -Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FOXE1/TTF2	Factor de transcripción tiroideo 2
FP	Falsos positivos
GH	<i>Growth Hormone</i> - hormona del crecimiento.
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno.
HC	Hipotiroidismo congénito
HT	Hipertirotropinemia.
I	Yodo.
ICCIDD	<i>International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders</i> -Consejo Internacional para el Control de los Trastornos por Déficit de Yodo.
ING	Global network iodine
LA	Latinoamérica
MCT8	Transportador de monocarboxilatos 8
MIT	Monoyotirosina
NIS	<i>Sodium Iodide Symporter</i> - simportador de sodio y yoduro.
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PAX8	Paired box gene 8
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDS	Síndrome de Pendred
PIOD	Defecto parcial de organificación del yodo
ppm	Partes por millón.
PC	Programa de Cribado
SNC	Sistema nervioso central
T3	L-triyodotironina.
T3L	T3 libre.
T4	L-tetrayodotironina o tiroxina.
T4L	T4 libre.
TBG	<i>Tiroxine Binding Globuline</i> - Globulina fijadora de hormonas tiroideas.
TDI	Trastorno por déficit de yodo. <i>Cambio todos a TDI</i>
Tg	Tiroglobulina.
THOX1 Y THOX2	Tiroxidasas 1 y 2
TIOD	Defecto total de organificación del yodo
TPO	ETiroperoxidasa

TRH	Thyrotropin-releasing hormone Hormona liberadora de Tirotropina.
TRH	Receptor beta de las hormonas tiroideas
TSH	<i>Thyroid Stimulating hormone</i> - Hormona estimulante del tiroides o tirotropina.
TSHR	Receptor de TSH
TT3	T3 total.
TT4	T4 total.
TTF1/NKX2	Factor de transcripción tiroideo 1
UNICEF	<i>United Nations Children's Fund</i> – Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia
VPP	Valor predictivo positivo

I. Introducción

1. Hipotiroidismo congénito: concepto.

El Hipotiroidismo Congénito (HC) es citado habitualmente como la causa más frecuente de deficiencia mental prevenible (Delange, 2000; Hetzel, 1999; Zimmermann et al, 2008) y se ha definido como deficiencia de HT en el momento del nacimiento (Rastogi & LaFranchi, 2010). En tiempos pasados la etiología principal de esta disfunción endocrina era la deficiencia nutricional de yodo que conduce al HC endémico cuya máxima expresión es el cretinismo. Los esfuerzos de organizaciones internacionales y de los gobiernos para solventar este problema, mediante programas de yodación de la sal de consumo, administración de compuestos de lípidos/yodo o, incluso, la yodación del agua, han supuesto una mejora considerable en la lucha contra el HC y cretinismo endémicos (Escobar del Rey et al, 1973; Stanbury, 2008).

Sin embargo, junto a esta etiología carencial existían cuadros de HC, generalmente sin bocio y no asociados a la deficiencia de yodo (HC y cretinismo esporádicos) (Fagge, 1871; Osler, 1893), que actualmente sabemos que están producidos por alteraciones en la glándula tiroides o en su regulación.

Las manifestaciones clínicas de la deficiencia congénita de Hormonas tiroideas y la gravedad de ellas se deben a la ubicuidad de efectos de estas hormonas. Las más frecuentes en el periodo perinatal son ictericia, bradicardia, macroglosia, hipotermia, hipotonía, estreñimiento, fontanelas excesivamente grandes, llanto ronco, letargo (Segni, 2017). Sin embargo más del 95% tienen pocos o ninguno de las manifestaciones clínicas en el momento del nacimiento, y solamente son evidentes cuando el daño cognitivo y el retardo mental es irreversible, de aquí la importancia de los programas de cribado (PC) de HC para el diagnóstico y tratamiento oportuno y prevenir el retardo mental, (LaFranchi, 2011a)

Por otra parte, la evolución temporal hace que las manifestaciones más llamativas sean las que se producen sobre el crecimiento y sobre el sistema nervioso central (SNC), de forma que los cuadros graves de deficiencia de Hormonas tiroideas no tratados a tiempo presentan siempre déficit de crecimiento y deficiencia mental grave. El retraso del crecimiento que se observa en el HC no tratado, se debe a la combinación de varios factores entre los cuales está la disminución de la síntesis de hormona del crecimiento (GH), y a la expresión del gen de la GH que está regulada por hormonas tiroideas (Spindler et al, 1982).

Como veremos más adelante los niveles de hormonas tiroideas influyen decisivamente en el desarrollo del sistema nervioso central durante la etapa fetal y neonatal, siendo mucho peores los cuadros de HC producidos por hipotiroxinemia materna grave, ya que la tiroxina materna

es fundamental para el desarrollo del cerebro fetal, al menos en los dos primeros trimestres de gestación, hasta que el tiroides del feto puede abastecer de T4 a sus tejidos. La hipotiroxinemia, aun con T3 normal o elevada es muy importante ya que el cerebro y otros tejidos necesitan la tiroxina para su conversión local a T3 (Escobar del Rey, et al 1989).

1.1 Cribado del hipotiroidismo congénito

La posibilidad de diagnosticar bioquímicamente el hipotiroidismo en el recién nacido se hizo realidad cuando se dispuso de radioinmunoanálisis (RIAs) para TSH (Odell et al., 1965) y para L-T4 (Chopra, 1972; Chopra et al., 1971). El trabajo pionero de varios grupos en Canadá y Estados Unidos inició el establecimiento de estudios de cribado neonatal de HC (Dussault & Laberge, 1973; Klein & Foley, 1975 Dussault et al., 1975).

El trabajo pionero de varios grupos en Canadá y Estados Unidos inició el establecimiento de estudios de cribado neonatal de HC (Dussault & Laberge, 1973; Klein & Foley, 1975) ;Dussault et al., 1975). A mediados de los años 70 se comienzan a publicar los resultados de estos programas, basados en la determinación de L-T4 o de TSH (Delange et al., 1977; Desai et al., 1978; Dussault et al., 1978; Fisher, 1977; Foley et al., 1977; Fritzsche et al., 1977; Grover et al., 1978)

El cribado neonatal del HC cumple todos los principios establecidos por Wilson & Jugner, 1968) para los programas de cribado (PC).

Aunque existe la evidencia clara de que el tratamiento precoz de los niños con HC mejora extraordinariamente su futuro desarrollo, algunos autores han puesto de manifiesto que el éxito del tratamiento sobre la actividad motora y cognitiva al llegar a la edad adulta está en función de la gravedad inicial del cuadro, pudiéndose no alcanzar una normalidad absoluta (Kempers et al., 2006). Si bien esto puede ser cierto, los estudios mencionados no correlacionan la evolución cognitiva y motora con el tipo de alteración tiroidea, por lo que pudiera ocurrir que los casos de peor evolución sean aquellos en los que las mutaciones sean sindrómicas, es decir, afecten tanto al tiroides como a otros tejidos, por ejemplo, cerebro.

La mayoría de niños con HC esporádico no tiene ningún síntoma específico al nacer. Por ello el diagnóstico de esta enfermedad es fundamentalmente bioquímico. El diagnóstico se basa en mostrar o bien en la elevación de la TSH, o bien en el descenso de la hormona tiroidea.

En el año 1972 se publicó (Dussault & Laberge, 1972) la valoración L-T4 en sangre recogida en soporte en papel, método que ya había sido utilizado por Guthrie en el diagnóstico de la fenilcetonuria. Este método es universalmente utilizado en la actualidad tanto para el diagnóstico neonatal como para otros procesos de cribado.

La disminución de los valores de corte de TSH en los (PC) y los cambios demográficos en los recién nacidos, se han asociado con una duplicación aproximada de las incidencias de HC. Los casos adicionales detectados por la disminución de los valores de corte de TSH suelen tener un hipotiroidismo más leve o HC transitorio (Ford and LaFranchi, 2014; Corbetta et al., 2009).

1.2 Cribado del hipotiroidismo congénito a nivel mundial

En la actualidad se estima que son cribados mundialmente para HC el 29.3% de los recién nacidos, existiendo marcadas diferencias por región geográfica: en Europa se calcula que es del 84,2%, en las Américas 82,3%, África 37,8% y Asia 24,4%. A pesar de la existencia de los PC desde hace más de cuatro décadas en los países desarrollados, alrededor del 71% de los nacimientos ocurren en lugares sin un PC establecido (LaFranchi, 2011a). Por lo tanto, la mayoría de los casos de HC en todo el mundo no son detectados y tratados tempranamente, de tal manera que la carga familiar y social de las deficiencias debidas a HC sigue siendo un desafío importante de salud pública. (LaFranchi, 2011^a)

1.3 Cribado del hipotiroidismo congénito en Latinoamérica

En los países de Latinoamérica (LA), el primer programa piloto de cribado neonatal para HC empezó en Argentina en 1985, mientras que el primer programa Nacional fue implementado en Cuba en 1986 (Borrajó, 2007). Hasta 2005 solamente 14 países de Centro y Suramérica tenían programas establecidos. En un estudio realizado sobre los Programa de cribado de HC en LA en el año 2007 se mostraba que solamente 4 países de los 14 estudiados lograron coberturas cercanas al 100% y el resto de países tenían coberturas entre 1-80%. Sin embargo, la mayoría de los países incrementó la cobertura por encima del 70% durante las últimas décadas. Actualmente no hay datos acerca de la implementación de PC en Guatemala, República Dominicana, Haití, Honduras y El Salvador (Therrell et al., 2015). En la Tabla 1 se muestra el estado de estos programas observando la heterogeneidad de las incidencias y coberturas encontradas en cada uno de los países (Borrajó, 2007). De lo anterior se deduce

que solamente con la experiencia de mucho tiempo de funcionamiento los PC logran coberturas cercanas al 100%.

En la mayoría de los países de LA se utilizan muestras de sangre seca para el cribado tomadas del talón a las 48 horas de vida (Borrajo, 2007), lo que tiene la ventaja de minimizar los falsos positivos, ya que los valores de TSH se elevan al nacer, existiendo un pico fisiológico entre las 24 - 36 horas de vida y disminuyen posteriormente. En LA hay 5 países (Colombia, México, Uruguay, Cuba y Nicaragua) que utilizan sangre de cordón para el cribado (Tabla 1). Este tipo de muestra es la que se utiliza también en otros países como Arabia Saudí, India, Tailandia, Malasia e Irán (Abduljabbar et al., 2009; Golbahar et al., 2010; Raj et al., 2014; Rajatanavin, 2007; Zarina et al., 2008). La razón principal para utilizar sangre del cordón es que, como ocurre en Nicaragua, si el parto ha sido normal, la mujer permanece hospitalizada solo unas horas. La OMS recomienda el uso de muestras de sangre seca tomada del cordón o del talón. En un estudio realizado en India en 130 neonatos, utilizando los dos tipos de muestra (cordón y talón), encontraron que no existían diferencias significativas entre ambos métodos. (Anju et al., 2014).

1.4 Técnicas empleadas para el cribado de HC

Existen distintos protocolos basados en la valoración de L-T4 o de TSH, siendo el segundo el más utilizado y el que nosotros seguimos. Ambos tienen sus pros y sus contras. Los protocolos que utilizan la medición de TSH se basan en la elevación de ésta cuando los niveles de tiroxina son bajos. Este método tiene el inconveniente de que no diagnostica el hipotiroidismo central. Por esto, algunos países han optado por hacer dos pruebas una a los 2-3 días del nacimiento en la que se valora TSH y otra a los 15 días en la que se valora T4 (Kempers et al., 2006) habiéndose aconsejado el análisis inicial de TSH seguido de los de L-T4 y Tg (Fisher, 2005; Wang et al., 1998).

La utilización de muestras de sangre de cordón ha sido validada por distintos grupos (Klein et al., 1974) (Manglik et al., 2005; Morales et al., 2007; Robinson, 2007; Walfish, 1976; Zabransky, 1976; Zumaeta et al., 2007).

País	Organización e inicio del cribado	Cobertura (2005)	Incidencia (2005)	Cobertura (2014)	Muestra
Argentina	Nacional 2006	64%	1: 2225	90%	Sangre seca talón
Bolivia	Público 2009		1: 3171	70%	Sangre seca talón
Brasil	Nacional 2001	80%	1: 2453	>83%	Sangre seca talón
Chile	Nacional 1992	100%	1: 3069	100%	Sangre seca talón
Colombia	Nacional 2000	36%	1: 2186	>80%	Mayoría sangre seca cordón
Cuba	Nacional 1986	99.5	1: 3616	100%	Suero del cordón
Ecuador	Nacional 2011			>90%	
Haití	No organizado				
México	Nacional 1995	70%	1: 2497	>80%	70% sangre seca cordón
Paraguay	Nacional 2004	17%	1: 1667	>60%	Sangre seca talón
Perú	Público 2004	3.90%	1: 2439	20%	Sangre seca talón
Repub Dominicana	No organizado	0.70%	1: 3600	-1%	Sangre seca talón
Uruguay	Nacional 1994	99.50%	1: 2064	100%	Mayoría sangre seca cordón
Venezuela	Nacional 1999	14.80%	1: 3333	70%	Sangre seca talón
Costa Rica	Nacional 1990	98.30%	1: 3195	>98 %	Sangre seca talón
Guatemala	Nacional 2003	-1%	1: 1715	-1.0%	Sangre seca talón
Nicaragua	Regional 2005	6.00%	1: 2445		Sangre seca cordón
Panamá	Nacional 2007		1: 2719	>75%	Sangre seca talón
El Salvador	No organizado		1: 2430	No datos	
Honduras	No organizado			No datos	

Tabla 1. Características de los programas de cribado neonatal para HC en LA. (Tomado de Borrajo, 2007, Therrell, et al 2015).

El punto de corte para TSH en la mayoría de los PC en sangre de cordón está por encima de 20 o 25 uUI/ml. (Dussault, 1999; Manglik et al., 2005; Raj et al., 2014; Zarina et al., 2008, Sunil et al., 2014; Kumar et al., 2005), sin embargo hay algunos países que utilizan puntos de cortes más bajos, de 15 (Queiruga et al., 2011; Vela et al., 2004)

1.5 Confirmación diagnóstica del HC

La prueba de cribado neonatal no es definitiva y cuando se ha detectado un niño con una TSH anormal, es llamado inmediatamente para evaluación por el pediatra y valoración en suero de TSH, T4 y T3. Es importante comparar los resultados del perfil tiroideo con valores de referencia, tomando en cuenta la edad del neonato. Si en la segunda prueba la TSH esta elevada y T4 baja se diagnostica el hipotiroidismo. Si la TSH está elevada y la T4 normal es una hipertirotrópinemia o hipotiroidismo subclínico. Si los niveles de TSH y T4 son normales se considera hipertirotrópinemia transitoria. Un caso especial es la prematuridad en la que la

primera prueba puede ser negativa y si se hace una segunda se encuentran valores elevados de TSH y bajos de T4. (LaFranchi, 2014; Léger et al., 2014; Vigone et al., 2014)

Para la medición de TSH en suero para el diagnóstico se utilizan análisis inmunométricos, IMAs. Los IMAs de naturaleza no isotópica han permitido el incremento de la automatización.

La TT4 y TT3 son medidas por inmunoanálisis no isotópicos en formato automatizado (IEMA, IFMA y ICMA). Muy recientemente se introdujo la espectrofotometría de masas.

La determinación de Tg en suero también se realiza mediante inmunoanálisis. Los IMAs isotópicos (IRMAs) y no isotópicos (IEMAs, IFMAs, ICMA) con diseños sándwich. (Ma & Skeaff, 2014).

Los estudios diagnósticos indicados para determinar la etiología, incluyen ecografía de tiroides, determinación de Tg en suero, medida de anticuerpos antitiroideos, medida de yodo en orina y estudios genéticos. Estos estudios diagnósticos no alteran la decisión del tratamiento y son considerados opcionales.

La ecografía permite el diagnóstico provisional de agenesia, ectopia, tiroides in situ o bocio. La Tg en suero refleja presencia o ausencia de tejido tiroideo. En algunos estudios se muestra que los niveles de Tg son más bajos en neonatos con aplasia tiroidea (media 12 ng/ml rango (2-54 ng/ml), intermedios en ectopia (media 92 y rango 11-231ng/ml) y altos cuando la glándula está aumentada de tamaño (media 226 ng/ml rango 3-425 ng/ml) (Rastogi & LaFranchi, 2010).

La enfermedad autoinmune materna, puede estar asociada con la producción de un anticuerpo bloqueador del receptor de la tirotrópica. Este anticuerpo pasará al feto y bloqueará la unión a la TSH, inhibiendo el desarrollo y la función de la glándula tiroides fetal (Rastogi & LaFranchi, 2010).

La gammagrafía tiroidea, no practicable en nuestro medio, permite también la localización del tiroides, así como realizar la prueba con ¹²³I sirven también para estudiar la morfología tiroidea así como su funcionalidad si se acompaña de un estudio de descarga con perclorato, que permite diagnosticar los casos de dishormonogénesis.

El estudio genético se realiza después de otros estudios que apunten a un defecto específico, es importante porque puede permitir el consejo genético en los casos hereditarios.

2. Etiología y clasificación del HC

La patología tiroidea es una de las más frecuentes en el campo de la Endocrinología Pediátrica. Baste señalar que el hipotiroidismo congénito es la endocrinopatía congénita más frecuente. (Moreno et al., 2005).

El hipotiroidismo congénito puede clasificarse en base a su carácter permanente o transitorio, o bien por el lugar de la anatomía donde radique el defecto, en tiroideo (o primario), hipotálamo-hipofisario (o central o secundario) y en periférico. Dentro del hipotiroidismo primario, existen 2 grandes grupos etiológicos: las disgenesias (alteraciones embriológicas) y las dishormonogénesis, o defectos de síntesis de las hormonas tiroideas pero con presencia de una glándula in situ.

La base molecular de la enfermedad tiroidea ha sido más extensamente estudiada en su expresión como hipotiroidismo congénito. Dentro de esta patología, actualmente conocemos unos 28 genes (y sus correspondientes proteínas) implicados en la síntesis de hormonas tiroideas, desarrollo embriológico y regulación funcional de la glándula, o bien en la acción de las hormonas tiroideas a nivel celular periférico (Moreno et al., 2005). De entre estos genes, 18 han sido relacionados con patología hipotiroidea humana a través de la identificación de deleciones o mutaciones de estos genes en pacientes con HC. El hipotiroidismo congénito *transitorio* puede deberse a factores medioambientales, como la falta endémica de yodo, autoinmunes, como el paso transplacentario de anticuerpos antitiroideos bloqueantes desde la madre al feto, o iatrogénicos, como el uso de povidonas yodadas en el cuidado del cordón umbilical de los recién nacidos y como antiséptico en la preparación del campo operatorio en las cesáreas. Pero también, curiosamente, puede tener una causa genética (Moreno et al., 2002).

Los trastornos tiroideos que, con ciertas restricciones conceptuales, podemos denominar “adquiridos” se han atribuido clásicamente a factores de tipo autoinmune (tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves) o ambiental (bocios multinodulares, tiroiditis infecciosas) y no genético. Sin embargo, es cada vez más patente que el componente genético, en combinación con otros factores externos, juega un papel esencial en el desarrollo de estas patologías tiroideas. Así lo demuestra la identificación por ligamiento genético de un creciente número de *loci* cromosómicos relacionados con estas enfermedades (Tomer et al., 2003)

2.1 Fundamentos moleculares de la función tiroidea.

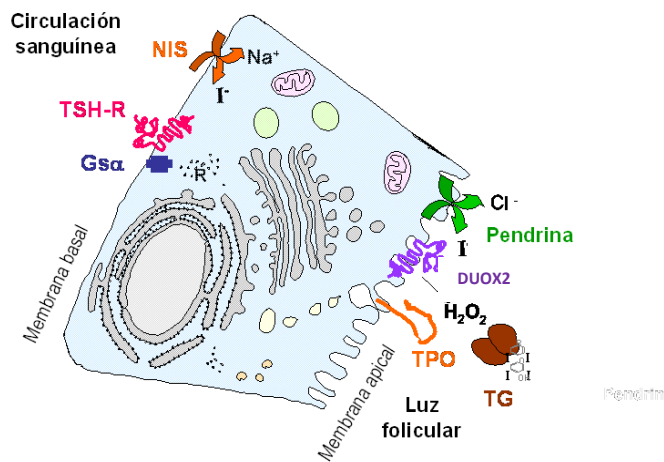
Virtualmente todos los genes que codifican proteínas tiroideas, ya sean enzimáticas o de carácter estructural, que participan en la síntesis hormonal del tiroides, pueden ser origen de defectos hereditarios que originen patologías tiroideas (Figura 1A) (Moreno et al, 2003).

El conocimiento cada vez más preciso de estos procesos de síntesis y el desarrollo de las técnicas de clonaje molecular están conduciendo a la identificación continua de nuevas proteínas específicas implicadas en la hormonogénesis tiroidea. Al papel esencial de la tiroglobulina (Tg) y la tiroperoxidasa (TPO) como soportes estructural y enzimático de la síntesis hormonal en el tiroides, se han venido sumando nuevas moléculas como el receptor de TSH (R-TSH) o la proteína Gs acoplada a este receptor, identificadas ya como causantes de otras dishormonogénesis de presentación clínica bien diferenciada.

La existencia, previamente intuita, de nuevas proteínas tiroideas, como la de un transportador activo de yodo en la membrana basal del tirocito, fue confirmada a través de la clonación del gen denominado NIS (por "Na⁺/I⁻ Symporter") o SLC5A5. Posteriormente, se han identificado dos nuevos transportadores de yodo. Uno de ellos, la Pendrina, codificada por el gen denominado PDS o SLC26A4, está localizado en la membrana apical, y sus defectos genéticos constituyen la base de la que posiblemente sea la más frecuente de las dishormonogénesis tiroideas, el Síndrome de Pendred. Recientemente, la identificación de 2 oxidasas tiroideas (DUOX1 y DUOX2, encargadas de la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en la luz folicular, engrosa la lista de genes conocidos que muestran una expresión específica o restringida al tiroides. La presencia de H₂O₂ en el folículo es necesaria para la correcta actividad de la TPO, enzima que cataliza la llamada "organificación" del yodo a la tiroglobulina, paso enzimático clave en la síntesis de las hormonas tiroideas.

Por último, existen en el tiroides actividades bioquímicas bien conocidas, como la "deshalogenación" de mono y di-yodotirosinas (MIT y DIT) y reciclaje del yodo intracelular tras la lisis de la Tg, que han sido recientemente caracterizadas desde el punto de vista molecular (Moreno et al., 2003) y son la base del hipotiroidismo conocido como deficiencia de la deshalogenasa tiroidea (Moreno et al., 2008).

A



B

Gen	Locus	Función proteína	Fenotipo clínico	Her.	OMIM
TSH-R	14q31	Activación de vías metabólicas específicas de tiroides	Hipoplasia tiroidea e HC profundo Hipertiropinemia eutiroides	A.R. A.R., A.D.	275200
GNAS1	20q13	Transducción de señales desde GPCRs para estimular la adenil ciclasa	Resistencia a TSH y/o <i>Osteodistrofia hereditaria de Albright</i>	A.D.	103580
NIS	19p13	Transporte basal de yodo desde el torrente sanguíneo hacia dentro de la célula tiroidea	HC profundo o moderado Bocio eutiroides	A.R.	601843 600044
TG	8q24	Matriz (pro-hormona) para la síntesis y almacenamiento de hormona tiroidea	Bocio e HC profundo o moderado Bocio eutiroides	A.R. A.D.	188450
TPO	2p25	Nodación de residuos tirosil de la tiroglobulina (organificación) y acoplamiento de yodotirosinas para formar T3+T4.	HC profundo debido a TIOD	A.R.	274500
PDS	7q31	Transporte de yodo desde el citoplasma al lumen folicular	"Síndrome de <i>Pendred</i> ": sordera y bocio o hipotiroidismo moderado debido a PIOD	A.R.	274600
DUOX2	15q21	Generación de H ₂ O ₂ en el folículo tiroideo	HC permanente y profundo (TIOD). HC transitorio y moderado (PIOD).	A.R. A.D.	607200
DEHAL1	6q25	Dehalogenación de MIT y DIT para reciclaje intratiroides del yodo	Defecto de dehalogenación de yodotirosinas.	A.R., A.D.	274800

AD: autosómico dominante; AR: autosómica recesiva; GPC-R(G-protein-coupled receptor: receptores acoplados a proteínas G; HC: hipotiroidismo congénito; OMIM: Online Mendelian inheritance in Man (código): PIOD (partial iodine organification defects): defectos parciales de organificación del yodo; T3 triyodotironines; T4: tiroxina; TIOD (total iodine organification defects): defectos totales de organificación del yodo.

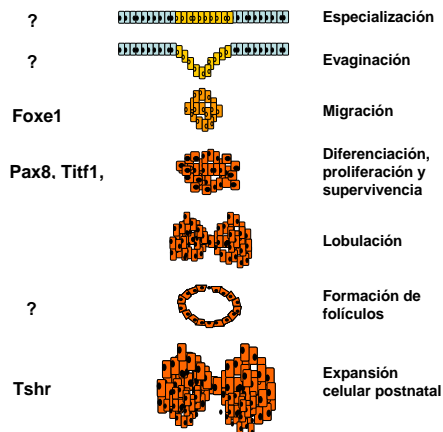
Figura. 1 Proteínas implicadas en la síntesis de hormonas tiroideas, los fenotipos clínicos expuestos se deben a mutaciones inactivadoras. Las mutaciones activadoras del receptor de TSH (TSHR) causan el hipertiroidismo neonatal no autoinmunitario y el hipertiroidismo gestacional no autoinmunitario. (Modificado de Moreno et al., 2003)

Los factores de transcripción específicos de tiroides, conocidos como NKX2.1 (o TTF-1, por Thyroid transcription factor), FOXE1 (o TTF-2) y PAX-8, se han relacionado fundamentalmente con alteraciones disgenéticas de la glándula tiroidea, pero también con defectos dishormonogénicos leves (Figura 2A) (Moreno et al., 2003). Estas proteínas son las esencialmente encargadas de dirigir la formación embriológica de la glándula tiroidea. Además, y aunque no participan directamente en los procesos de síntesis hormonal del tirocito, son responsables del mantenimiento del fenotipo tiroideo a través del estímulo de la transcripción de genes fundamentales para el mismo, como los de Tg, TPO, R-TSH o NIS. La alteración funcional de estos factores de transcripción tiroideos, si bien conduce a hipotiroidismo como expresión clínica común (bien por disgenesia tiroidea o bien por ciertas variantes dishormonogénicas poco estudiadas), origina también algunos rasgos fenotípicos característicos de cada entidad que permiten su diferenciación clínica o bioquímica (Figura 2 B).

La regulación del metabolismo de la célula tiroidea viene dada fundamentalmente por la tirotropina o TSH, péptido secretado por las células tiotropas de la hipófisis. La secreción de TSH implica el correcto funcionamiento de, al menos cuatro genes: los que codifican el péptido TRH hipotalámico, el receptor de TRH en la célula tirotropa y los dos genes que codifican las 2 proteínas que formarán el dímero de TSH, la subunidad alfa y la beta. Además, la correcta diferenciación de la línea celular tirotropa, como la de las demás líneas celulares hipofisarias, depende de la existencia en un programa de expresión génica de determinados factores de transcripción, muy específico desde el punto de vista temporo-espacial.

Finalmente, la función fisiológica de la hormona tiroidea tiene lugar en el núcleo de todas las células periféricas. Para ejercer su efecto, pues, las hormonas tiroideas (T4 y T3) han de seguir 3 pasos principales. El primero y tras su llegada a la membrana celular a través del torrente sanguíneo, las hormonas tiroideas han de pasar al interior celular. Clásicamente se ha venido pensando que este paso tenía lugar de manera pasiva, o bien facilitada por ciertas moléculas de membrana con poca especificidad de sustrato por las hormonas tiroideas, ya que también podían transportar cierta clase de aminoácidos y otros productos de similar tamaño molecular. Esta creencia ha sido desterrada recientemente con la demostración de que una nueva proteína, conocida como MCT8 (por MonoCarboxilate Transporter) o SLC16A2, es capaz de transportar de manera específica hormonas tiroideas (Friesema et al., 2004).

A



B

Gen	Locus	Función proteína	Fenotipo tiroideo *	Herencia	OMIM
FOXE1	9q22	Transcripción de genes implicados en migración del primordio tiroideo y otros procesos embrionarios de la línea media	Agnesia tiroidea , paladar hendido y atresia de coanas.	A.R.	602617
PAX8	2q12-14	Transcripción de genes implicados en la supervivencia y diferenciación de las células tiroideas en migración.	Hipoplasia y ectopia tiroidea, con HC intenso.	A.D.	167415
TTF1	14q13	Transcripción de genes implicados en la supervivencia y diferenciación de las células tiroideas en migración.	Coreoatetosis, distress respiratorio neonatal y leve disfunción tiroidea.	A.D.	600635
TSHR	14q31	Activación de vías metabólicas específicas del tiroides (proliferación celular postnatal)	Hipoplasia tiroidea intensa e HC	A.R.	275200

AD: autosómico dominante; AR: autosómica recesiva; GPC-R(G-protein-coupled receptor: receptores acoplados a proteínas G; HC: hipotiroidismo congénito; OMIM: Online Mendelian inheritance in Man (código)

Figura 2. Proteínas implicadas en el desarrollo y diferenciación de la glándula tiroidea a, todos los fenotipos clínicos se asocian a mutaciones inactivas. (modificado de Moreno et al., 2003).

3. Genes implicados en el hipotiroidismo congénito y su herencia

En las figuras 1-2 se resumen los genes conocidos implicados en alteraciones dishormonogénicas (Fig.1) y disgenéticas (Fig.2) del tiroides, y en alteraciones del metabolismo periférico de la hormona tiroidea. Las tablas describen la localización cromosómica de los genes, su nomenclatura actualizada, la función de las proteínas que codifican y finalmente las características clínicas o bioquímicas de las enfermedades que generan la inactivación de estos genes.

La herencia de las dishomonogénesis es de carácter mendeliano y, con algunas excepciones, sigue un patrón autosómico recesivo. El hipotiroidismo presente en la osteopatía de Albright, un defecto en el gen de la proteína Gsa que produce una falta de respuesta intracelular a la TSH, es un tipo de dishormonogénesis que se hereda de forma dominante, aunque su penetrancia es muy variable. La otra dishormonogénesis leve de herencia dominante es la que produce un HC transitorio debido a la inactivación monoalélica del gen DUOX2 (Moreno et al., 2002).

El carácter recesivo de la mayoría de dishormonogénesis nos hace presumir que la existencia de un único alelo activo de estos genes es suficiente para mantener una función tiroidea normal. Sin embargo, como ya se ha expresado, la haploinsuficiencia (actividad de uno sólo de los alelos) de algunos de estos genes tiroideos puede originar fenotipos tiroideos menores, leves o incompletos cuando se suman otras circunstancias limitantes de la hormonogénesis, como la carencia de yodo. Una mejor caracterización, tanto clínica como molecular, de estos defectos parciales de la función tiroidea contribuiría de forma importante a clarificar la etiología de los tipos de hipotiroidismo aún catalogados de idiopáticos.

El tipo de herencia en las disgenesias tiroideas puede ser autosómica dominante en caso de defectos en los genes PAX8 y TTF1, reflejando que la haploinsuficiencia de estos factores es la causa de la enfermedad. La penetrancia familiar y la expresión fenotípica de estos defectos, especialmente en el caso de PAX8 son muy variable. El cuadro fenotípico por defecto de TTF2 se hereda con patrón autosómico recesivo.

Finalmente fenotipos tiroideos como el descrito para mutaciones en el gen MCT8, localizado en el Cromosoma X, solo se expresan de manera florida en varones. Sin embargo se han descrito alteraciones hormonales leves en mujeres portadoras del defecto, que no tienen la enfermedad neurológica (Dunitresco et al., 2014).

4. Síntesis de hormonas tiroideas

La síntesis de las hormonas tiroideas tiene lugar casi exclusivamente en el tiroides. La Tg funciona como matriz para la síntesis de las hormonas tiroideas y además, como sistema de almacenamiento extracelular de éstas en forma inactiva. El yodo entra en las células foliculares en forma de yoduro, posteriormente es transformado mediante una serie de reacciones metabólicas incorporándose a la T3 y T4, que serán liberadas a la circulación. Este proceso tiene lugar en las etapas cuya fisiología y fisiopatología se resumen a continuación (figura 3).

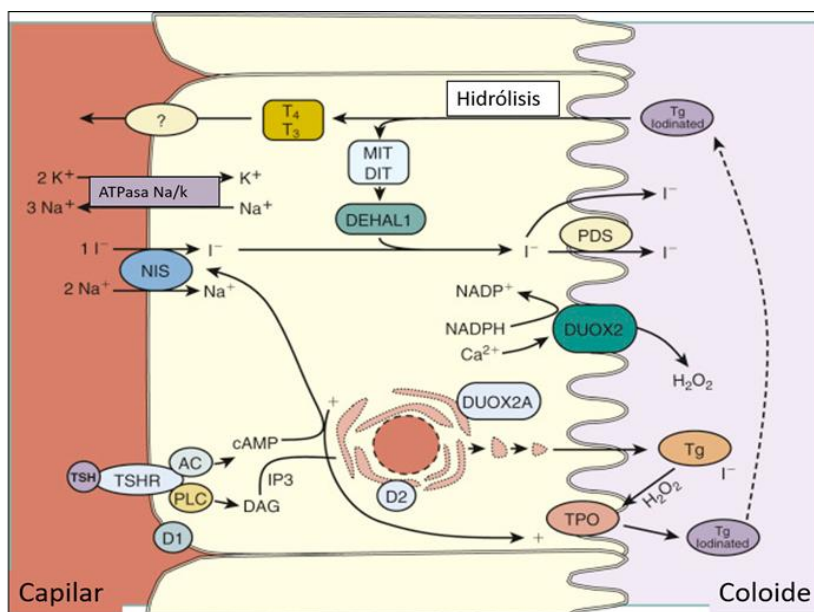


Figura 3: Síntesis de HT. AC: adenilil ciclase, ATPasa: adenosina trifosfatasa; cAMP, 3'-5' adenosina monofosfato; sD1, desyodasa tiroidea tipo 1; D2, desyodasa tiroidea tipo 2; DAG, diacilglicerol; DEHAL1, yodotirosina deshalogenasa 1 (IYD); DIT, diyodotirosina; DUOX, oxidasa dual; IP3, inositol trisfosfato; MIT, monoyodotirosina; NADP+, nicotinamín adenosín dinucleótido fosfato oxidado; NADPH, nicotinamín adenosín dinucleótido fosfato reducido; NIS, cotransportador de sodio y yodo; PDS, pendrina (SLC26A4); PLC, fosfolipasa C; T3, triyodotironina; T4, tiroxina; Tg, TPO, peroxidasa tiroidea; TSH, tirotropina; TSHR, receptor de tirotropina modificado de (Salvatore et al., 2017)

En condiciones fisiológicas y suficiente aporte de yodo, la glándula segrega cantidades más abundantes de T4 que T3, con una relación aproximada de 60/1 pero el ratio de las concentraciones de las formas libres (T4L/T3L) es mucho más baja, de aproximadamente 5. La T4L y T3L son las formas hormonales, que pueden entrar a la célula, las que son metabolizadas por vías metabólicas denominadas vías de desyodación (D1, D2 y D3) (Refetoff, 2015).

En el desarrollo del cerebro fetal debe tenerse en cuenta que predominan las isoformas D2 y D3 y no se encuentra D1 y el papel de la T4 materna es esencial (Chan & Kilby, 2000). Durante el desarrollo fetal y postnatal toda la T3 que llega a unirse a los receptores nucleares, presentes en diferentes tipos celulares del sistema nervioso, se genera a partir de la T4 y al menos en los primeros estadios de gestación esta procede de la madre, de ello se deriva la importancia de evitar una hipotiroxinemia materna durante los dos primeros trimestres de gestación (Morreale, 1991; Morreale et al., 2007).

Las hormonas tiroideas son decisivas en distintos procesos del desarrollo del SNC: crecimiento axonal y dendrítico, sinaptogénesis, migración neuronal y mielinización (Bernal, 2015; Oppenheimer & Schwartz, 1997) (figura 4). Estas modificaciones en la ultraestructura dinámica del cerebro tienen su correlato en la patología asociada a la deficiencia de HT.

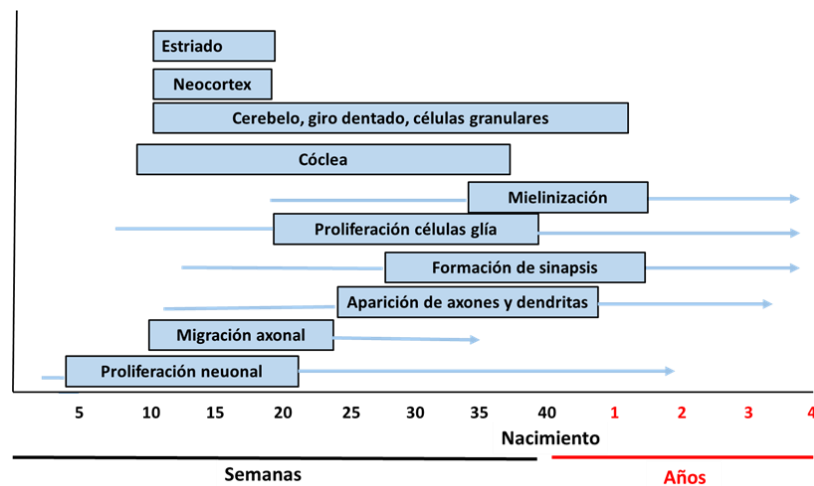


Figura 4: Evolución temporal de los procesos principales en el desarrollo pre y postnatal del cerebro humano. Modificado de Bernal, 2015.

La influencia de las hormonas tiroideas sobre el cerebro dura toda la vida del individuo, pero es decisiva en el desarrollo intrauterino y en los primeros años después del nacimiento. En áreas con deficiencia crónica de yodo la hipotiroxinemia materna y fetal puede ocurrir desde una etapa temprana de la gestación. Las hormonas tiroideas son requeridas para la mielinización del cerebro durante la vida fetal y postnatal. Las hormonas tiroideas actúan regulando procesos de diferenciación de las terminaciones neuronales, como el crecimiento dendrítico, estimulación de la mielinización, desarrollo de la audición (morfogénesis de la cóclea y del órgano de Corti). La hipotiroxinemia durante ese periodo crítico causa daños irreversibles en el cerebro con un retardo mental y anomalías neurológicas. El déficit aislado de T4, aun con T3 normal o elevada y TSH normal (hipotiroxinemia), es relevante ya que existen tejidos como el cerebro que necesita la tiroxina para su conversión periférica a T3 (Salvatore et al., 2017).

5. Deficiencia de yodo

Como se ha visto, los niveles adecuados de yodo son esenciales para la síntesis de las HT de cuya estructura forman parte.

El yodo (como yoduro), está distribuido ampliamente en el planeta de manera irregular. Su presencia depende de factores geológicos. Muchas regiones, debido a las glaciaciones/desglaciaciones o inundaciones, suelen ser deficientes en este micronutriente. Actualmente la mayor concentración del elemento se encuentra en los mares y océanos. Además de la deficiencia nutricional de yodo pueden existir otros factores (alimentos con sustancias bociógenas, contaminantes, fármacos) que afectan tanto a la madre como al feto

produciendo una menor disponibilidad de este halógeno y de las hormonas de las que forma parte (véase más adelante).

La deficiencia nutricional materna de yodo puede tener distinta gravedad. Así, una hipotiroxinemia que ocurra desde las etapas tempranas de la gestación, es crítica y causará un daño irreversible en el cerebro del niño con retardo mental y anormalidades neurológicas, dependiendo la gravedad de las consecuencias del momento y de la intensidad del déficit hormonal (Zimmermann, 2009a, 2009b) (Ares et al., 2005).

Las circunstancias se agravan cuando además existen otros factores como pueden ser anticuerpos, es el caso de las enfermedades autoinmunitarias materna, la presencia de bociógenos en la dieta y otros factores ambientales como la deficiencia de selenio, hierro y vitamina A. Es importante destacar que los efectos de la deficiencia de yodo en el desarrollo del bocio y la hipofunción tiroidea son extremadamente variables, incluso en las zonas endémicas, dentro de la misma región, por lo que es probable que, en dicha respuesta, intervengan otros factores dietéticos, genéticos y/o ambientales (Chan & Kilby, 2000; Zimmermann, 2009a; Zimmermann et al., 2008) .

5.1 Absorción intestinal de yodo

El yodo del organismo proviene de los alimentos y del agua de la dieta. Los alimentos de origen marino son los que más tienen (100 µg/100 g). La leche también es una fuente importante de yodo. Las carnes y algunos vegetales son suministradores importantes del elemento y otras fuentes importantes son la sal yodada y los aditivos con yodo que utilizan las industrias alimentarias, sobre todo en panificación (Haldimann et al., 2005; Pearce et al., 2004; Pennington et al., 1995)

El yodo se absorbe casi completamente y de forma rápida en la mucosa gastrointestinal en forma de yoduro, distribuyéndose en el espacio extracelular (Nicola et al., 2009).

El yodo ingresa al organismo en forma de yodo libre o yodo inorgánico, o incorporado en los diversos compuestos orgánicos. Desde el plasma el yoduro es incorporado principalmente a la glándula tiroides, mediante un mecanismo de transporte activo, una pequeña parte se elimina por el riñón. En caso de déficit de yodo, aumenta la proporción captada por el tiroides y disminuye la excreción por la orina, y si la ingesta es superior aumenta la excreción por la orina (Zimmermann, 2009a).

El transporte del yodo depende del estado nutricional del yodo y de la estimulación del receptor de TSH (TSHR). Por lo tanto la ingesta de yodo y su organificación son inhibidos por altas concentraciones intracelulares de yodo. Otros factores involucrados en la regulación del transporte intestinal de yodo son las citoquinas, factores de crecimiento y estradiol que también regulan negativamente la expresión de *NIS* (Pesce & Kopp, 2014).

5.2. Requerimientos diarios de yodo

Las necesidades de los recién nacidos prematuros, neonatos, niños pequeños mujeres embarazadas y lactantes son más altas en relación al peso. En el caso de las mujeres embarazadas el incremento en la ingesta de yodo es necesario para mantener una producción adecuada de T4, tanto para mantener el estado eutiroideo de la madre como para transferir la hormona o el yoduro al feto (Morreale et al., 2007; Zimmermann, 2009b). En el caso de las mujeres lactantes los requerimientos de yodo también están aumentados, al igual que los niños pequeños es necesaria una ingesta adecuada de yodo, (Zimmermann, 2009a; Zimmermann et al., 2008). Cuando la cantidad de yodo es insuficiente, aparecen una serie de alteraciones funcionales y de desarrollo que se conocen como Trastornos por Déficit de Yodo (TDI, Iodine Deficiency Disorders o IDD).

5.3 Papel de la placenta y etapa fetal

Las HT en el feto proceden de la madre y del tiroides fetal. La placenta actúa como barrera que permite el paso de las hormonas tiroideas, yodo, anticuerpos antitiroideos, fármacos y compuestos antitiroideos y es impermeable a la TSH (Chan et al., 2009; Dattani & Gevers, 2017). En las primeras semanas de vida la madre suministra al feto todas las HT, hecho importantísimo para la multiplicación neuronal (Morreale et al., 2008; Morreale, 1991; Zimmermann, 2009b). Aunque el tiroides fetal es funcional en la segunda mitad de gestación las hormonas maternas son imprescindibles hasta el final del embarazo (Morreale & Ares, 1998), de aquí la importancia de que la madre debe de aportar suficiente cantidad de T4 sobre todo, si el feto tiene hipotiroidismo, incluso si es grave como el caso de las agenesias tiroideas, y también el hecho de que los prematuros requieran frecuentemente tratamiento con tiroxina debido a que su tiroides es insuficiente para sus necesidades metabólicas (Reuss et al., 1997; Swanson & Berseth, 1987). Si la madre presenta hipotiroxinemia y ocurre en el tercer trimestre del embarazo o en la lactación, el deterioro neurológico será menor, pero el individuo presentará bajo crecimiento, mixedema y otros síntomas de hipotiroidismo grave (Zimmermann, 2009a). Existen diversos estudios que han demostrado que la profilaxis con

yodo durante el embarazo y la lactancia mejoran el desarrollo cognitivo de los niños durante los primeros 2 años de vida. (Velasco et al., 2009)

Puesto que el yodo puede atravesar la placenta, el tiroides fetal es sensible al su exceso porque aún no están maduros sus mecanismos autoreguladores. La respuesta a la exposición al yodo, bloquea la formación de hormonas tiroideas y a veces el efecto Wolff-Chaikoff es excesivo lo que produce una inhibición en la síntesis de hormonas tiroideas que se diagnostica como HC al nacimiento (Connolly et al., 2012)

5.4. Situación nutricional de yodo en el mundo.

La prevalencia del cretinismo ha disminuido mucho, gracias a la actividad de organismos internacionales (OMS-OPS, UNICEF, ICCIDD-IGN) dirigida a la eliminación de la deficiencia nutricional de yodo y a las iniciativas locales en muchos países, además de la implementación de programas para la detección del HC. Estos programas han tenido una gran influencia en el logro del nivel de inteligencia programado genéticamente, medido como IQ (Hetzel, 1999).

A pesar de los esfuerzos del Consejo Internacional para el Control de los Trastornos por Deficiencia de yodo (ICCIDD) para poner fin a las formas prevenibles de hipotiroidismo, bocio y retraso mental, para el año 2012 los datos de la OMS, basados en la mediana de excreción de yodo en orina, muestran que 32 países presentaron deficiencia de yodo y que globalmente el 29,8% de la población eran niños. 37 de los 128 países cuentan con cobertura de yodación de la sal que cumple con el objetivo internacional de que al menos el 90% de los hogares consuman sal adecuadamente yodada y 39 países presentan tasas de cobertura inferiores al 50% . Aproximadamente un 70% tiene acceso a la sal yodada (De Benoist et al., 2008; Dunn, 2001; Zimmermann & Andersson, 2012). En el siguiente Mapa se puede ver que la mayoría de los países se encuentran con suficiencia de yodo, (Fig. 5)

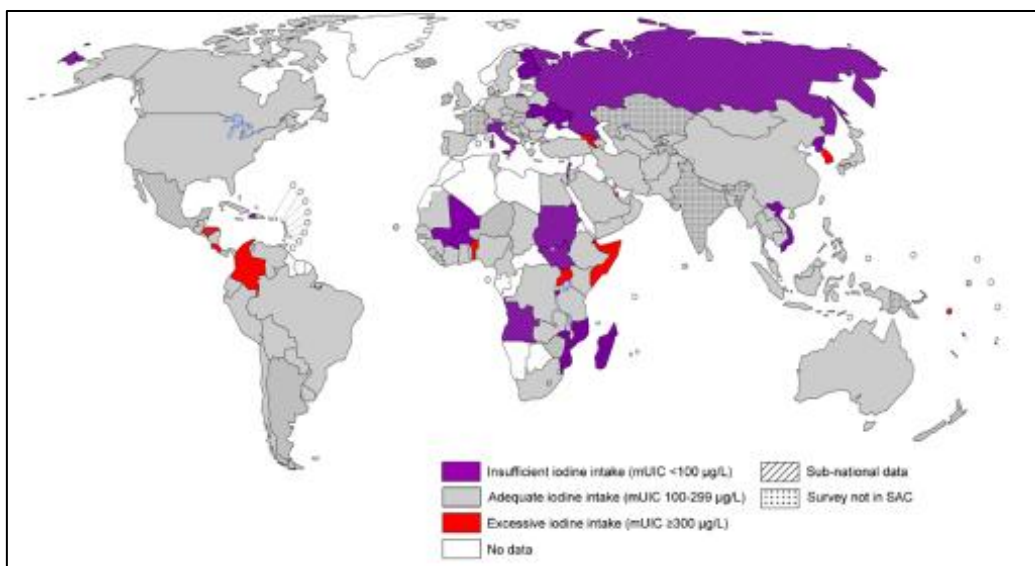


Figura 5: Mapa de la situación mundial de la nutrición de yodo. Basado en la mediana de la concentración de yodo en orina en escolares y adultos. Tomado de IGN 2017.

5.5. Situación nutricional de yodo en América

En un informe reciente se concluye que en América prácticamente se ha eliminado la deficiencia nutricional de yodo (Pretell et al., 2017). En la figura 6, se muestra como estaba la nutrición de yodo antes de la yodación de la sal y como está actualmente, basándose en las medianas de yodurias en escolares en el año 2016, considerándose América libre de deficiencia de yodo (Pretell et al., 2017).

5.6. Situación de la nutrición de yodo y yodación de la sal en Latinoamérica

En 1995 se estableció el compromiso de la yodación universal de la sal para consumo humano y la erradicación de la deficiencia de yodo como problema de salud pública en el año 2000. Desde el año 1999 en todos los países existe legislación obligatoria de yodación de la sal para consumo humano, con un nivel de yodación entre 30-100 ppm, para ese año el 33% de los países habían logrado el control de la deficiencia de yodo como problema de salud pública y el 61% estaba próximo a lograrlo (Pretell, 2014).

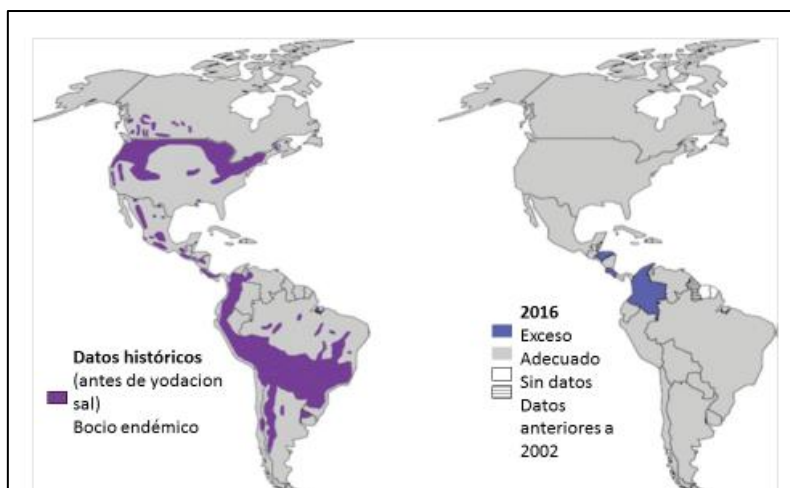


Figura 6: Evolución de la situación nutricional de yodo en América. Modificado de Pretell et al, 2017.

En el año 1999, se encontró que la mediana de yodo contenido en sal variaba ampliamente desde 5.9 ppm en Nicaragua hasta 78 ppm en Chile. Los países que presentaron mayor prevalencia de bocio fueron México (20,4%), Honduras (21%) y Nicaragua (25 %) (Pretell et al, 2004). Datos publicados por la OMS para el año 2003 indican que LA tenía una prevalencia de bocio de 4.7% (De Benoist et al., 2004).

A partir del año 2014 la mayoría de los países mantienen programas para el control de los TDI para lograr el nivel de ingesta de yodo adecuado (Pretell, 2014), solamente en (Haití) se encuentra con deficiencia de yodo (Figura 7). En el año 2016 todos los países de LA presentan suficiencia de yodo $> 100 \mu\text{g} / \text{l}$ (Pretell et al., 2017). Sin embargo esos resultados en la mayoría de los países no son actuales (más de 5 años) (Figura 7), por otra parte las yodurias de las mujeres embarazadas, mostraron la existencia de deficiencia nutricional de yodo ($< 150 \mu\text{g} / \text{l}$) (Pretell, 2014).

5.6. Situación nutricional del yodo en América Central

La incidencia de bocio en Centroamérica en un estudio realizado entre 1965 y 1967 en 21611 individuos fue entre el 5,2 y el 48,2% dependiendo del país. En ese mismo estudio se analizó la concentración de yodo en orina en 3181 individuos, encontrándose un rango de 21 – 155 $\mu\text{g} / \text{L}$ (Ascoli & Arroyave, 1970). Basándose en este estudio se estableció el límite de la normalidad de la yoduria en 100 $\mu\text{g} / \text{l}$. (Figura 8).

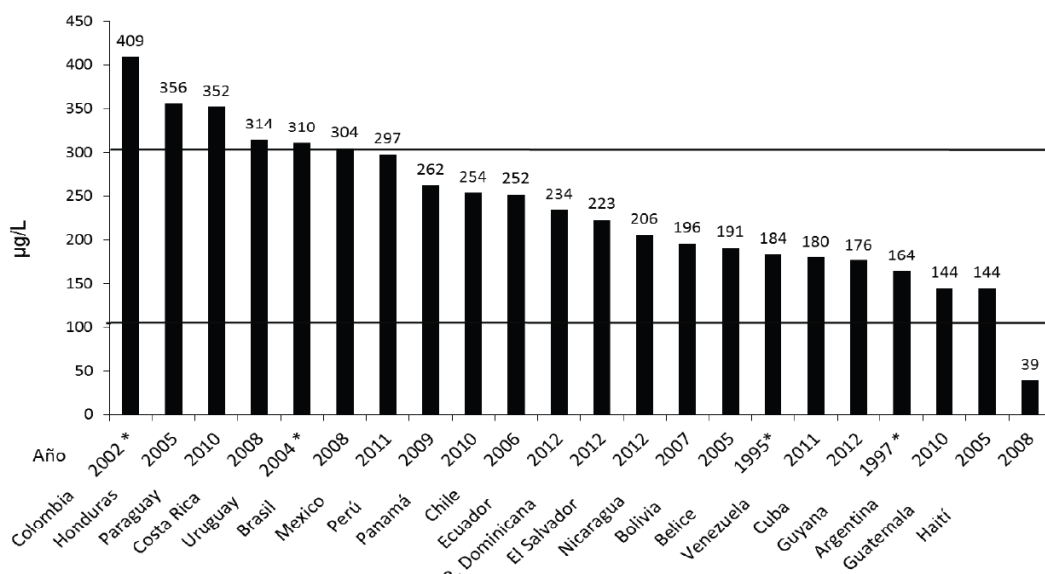


Figura 7. Medianas de yodurias en escolares en LA año 2014, Fuente: www.ign.org/cm-data/eliminacion_sostenible.

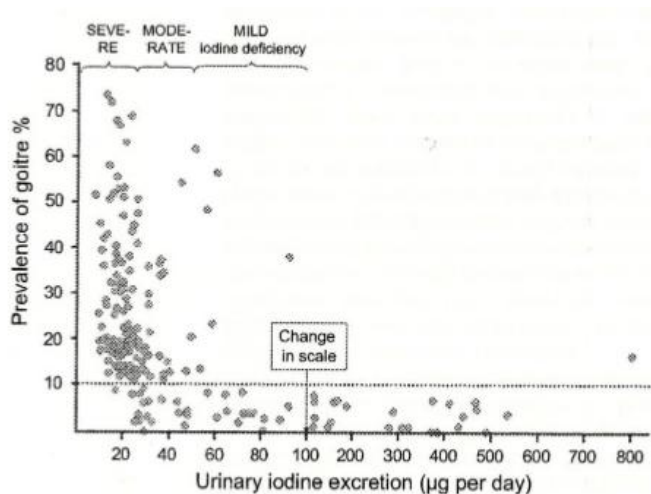


Figura 8: Relación de Medias de las CUI y la prevalencia de bocio sobre exámenes clínicos en 186 localidades de Centroamérica (Tomado de Ascoli & Arroyave, 1970).

5.8 Situación nutricional de yodo en Nicaragua

En Nicaragua la yodación de la sal fue aprobada en el año 1968 y fue implementada en 1978. Datos de un estudio realizado a nivel LA en el año 1999 sobre el contenido de yodo en sal y en orina, muestran una mediana de 5,9 ppm de yodo en la sal con un 60% de las muestras con concentraciones menores a 10 ppm y solamente un 30% de estas con concentraciones superiores a 15 ppm. El yodo en orina en niños escolares (mediana) fue de 116 µg/L y se encontró un 25% de bocio (Pretell et al., 2004). Para el año 2014 los niveles de yodurias en escolares fue de 196 µg/l, la proporción de hogares que consumieron sal adecuadamente yodada estuvo entre 80-89%. El último control de la yodación de la sal fue realizado para el

año 2009, encontrando un 81% de las muestras con yodo en sal mayor de 15 ppm. (Pretell 2014).

6.0 Indicadores de nutrición de yodo en una población según criterio de la OMS

De acuerdo con la OMS, UNICEF e ICCIDD para definir la situación nutricional de yodo en una población global existen 3 indicadores principales; (De Benoist et al., 2004; WHO, 2007; Zimmermann et al., 2008)

6.1. Concentración de yodo en orina

Debido a que más del 90% de yodo ingerido se elimina por orina, la concentración urinaria de yodo o yoduria es un marcador sensible de la ingesta reciente de yodo (días) y el mejor indicador para detectar los trastornos por deficiencia de yodo. Una mediana menor de 100 µg/l sugiere un elevado riesgo poblacional de TDI. (Zimmermann et al., 2008)

En la Tabla 2 se presentan los criterios de la OMS de valoración de la deficiencia de yodo, basados en los valores de yoduria de niños escolares, embarazadas y lactantes.

<i>Yoduria (medianas en µg/l)</i>	<i>Nutrición de yodo</i>
Escolares	
<20	Deficiencia grave
20–49	Deficiencia moderada
50–99	Deficiencia leve
100–199	Óptimo
200–299	Más que el adecuado
>299	Posible exceso
Mujeres embarazadas	
<150	Insuficiente
150–249	Adecuado
250–499	Superior al adecuado
>500	Excesivo
Mujeres lactantes	
<100	Insuficiente
>100	Adecuada
Niños menores de 2 años	
<100	Insuficiente
>100	Adecuada

Tabla 2: Criterios epidemiológico de la OMS para medir el estado nutricional de yodo de una población (WHO, 2007; Zimmermann et al., 2008)

6.2 Tamaño del tiroides

Prevalencia de bocio en niños en edad escolar (6–12 años), evaluada mediante palpación cervical o ecografía. De los dos métodos más utilizados para medir el tamaño tiroideo, palpación y ecografía tiroidea el último provee una mayor precisión. El tamaño de la glándula tiroidea cambia en respuesta a alteraciones en la ingesta de yodo en el plazo de pocos meses a varios años, dependiendo de muchos factores: severidad y duración de la deficiencia de yodo, edad, sexo y posibles factores bociógenos. El bocio se define como un tiroides con un volumen superior al percentil 97 en relación a sexo, edad y área de superficie corporal (ASC). Hay estudios que dan valores de referencia del volumen tiroideo de acuerdo a la edad y de acuerdo al ASC (Foo et al., 1999; Zimmermann et al., 2004; Zimmermann et al., 2001).

6.3 Concentración de TSH neonatal

La prevalencia de hipertirotropinemia neonatal (TSH > 5 mU/l). La OMS recomienda este indicador como complementario a estudios de yodurias en micción aislada en escolares y embarazadas (WHO, 2007). Los criterios que indican deficiencia de yodo mediante medida de TSH son: TSH mayor de 5 mU/l en sangre total y mayor de 10 mU/l en suero en más del 3% de la población. Una frecuencia de 3 –19.9% indican deficiencia de yodo leve, de 20-39.9%, deficiencia moderada y mayor de 40%, deficiencia grave. El incremento en el número de neonatos con concentraciones moderadamente elevadas de TSH (superiores a 5 mU/l en sangre total y 10 mU/l en suero) es proporcional al grado de deficiencia de yodo durante el embarazo (Jaruratanasirikul et al., 2006; Rajatanavin, 2007; Tylek et al., 2003; OMS, 2007). Hay varios estudios que han utilizado la valoración de la TSH neonatal de sangre del cordón umbilical como medida de la función tiroidea y del estado nutricional del yodo (Kurtoglu et al., 2004; Elton et al., 2001; Azizi et al., 2011; Rajatanavin, 2007, Chakraborty et al., 2006) y han encontrado asociación entre TSH neonatal con yodurias de sus madres. (Rajatanavi, 2007).

6.3 Concentración de tiroglobulina

En áreas de bocio endémico hay incremento de Tg en suero debido a hiperplasia de células tiroideas y estimulación de la TSH. La Tg en suero correlaciona bien con la severidad de la deficiencia de yodo (Ma & Skeaff, 2014; Zimmermann, 2008, 2009a)

La Tg presenta una respuesta intermedia (semanas a meses) (Zimmermann et al., 2008). Este parámetro es recomendado por la OMS para niños en edad escolar (WHO, 2007). Sin embargo hay algunos estudios que han utilizado éste parámetro en neonatos como parte de la evaluación de la función tiroidea en relación al estado nutricional de yodo (Kurtoglu et al., 2004; Elton et al., 2001; Azizi et al., 2011).

En la Tabla 3 se describen los criterios propuestos por la OMS para definir una población deficiente de yodo.

Criterio	Población	Leve	Moderado	Grave
Bocio (%)	Niños 6–12 años	5.0-19.9	20-29.9	≥ 30
Mediana de yoduria (µg/l)	Niños 6–12 años	50.0–99.9	20,0–49.9	≤19
TSH >5 mU/l (3%)	Neonatos	3.0–19.9	20–39.9	≥40

Tabla 3. Criterios para definir una población como deficiente de yodo y su gravedad

El patrón característico de las hormonas tiroideas en los niños en zonas de moderada a grave deficiencia nutricional de yodo, es una elevación variable de la TSH, baja concentración de T4, T3 normal o levemente elevada y Tg sérica elevada. (Zimmermann, 2009)

La deficiencia de yodo está asociada generalmente a otros factores ambientales como es una dieta rica en compuestos bociógenos. (Tabla 4)

Bociógeno	Mecanismo
Mandioca, frijoles, patatas dulces, linaza, zahína, vegetales de la familia de las Crucíferas (como col, repollo, coliflor, brócoli, nabo, remolacha)	Contienen glucósidos cianogénicos que son metabolizados en tiocianato el cual compite con el yodo en la captación tiroidea
Soja y mijo	Contienen flavonoides que disminuyen la actividad de la peroxidasa
Perclorato	Inhibidor competitivo de NIS, disminuyendo el paso del yodo al interior del tiroides
Déficit de selenio	La acumulación de peroxidasa puede dañar el tiroides y el déficit de desyodinasas disminuye la síntesis de hormonas tiroideas
Déficit de hierro	Reduce la actividad de la tiroperoxidasa y puede disminuir la eficacia de la profilaxis con yodo
Déficit de vitamina A	Incrementa la estimulación de la TSH y bocio

Tabla 4 Alimentos bociógenos y su mecanismo de acción, Tomado de Zimmermann, 2009.

En la Tabla 5 se muestra el conjunto de enfermedades tiroideas asociadas tanto al déficit como al exceso de yodo, especialmente relevante desde la etapa fetal hasta en la infancia. (Zimmerman, 2009).

Grupos fisiológicos	Consecuencias para la salud
Todas las edades	Bocio Hipotiroidismo Incremento en la susceptibilidad a la radiación nuclear
Feto	Aborto espontáneo Muerte fetal Anomalías congénitas Mortalidad perinatal
Neonato	Cretinismo endémico, incluyendo deficiencia mental con una mezcla de mutismo, diplejía espástica, estrabismo, hipotiroidismo y baja estatura Mortalidad infantil
Niños y adolescentes	Deterioro de la función mental Retraso en el desarrollo físico Hipertiroidismo inducido por yodo
Adultos	Deterioro de la función mental Hipertiroidismo inducido por yodo

Tabla 5. Trastornos por déficit o exceso de yodo. Tomado de (WHO 2007; Zimmermann, 2009)

II. Objetivos

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Evaluar el programa de cribado neonatal de HC en Nicaragua, estableciendo los parámetros epidemiológicos básicos así como la etiología de los casos encontrados, con la ayuda de las técnicas de genética molecular, y de datos de yodurias que informan su relación con posibles factores ambientales.

Objetivos específicos

- I. Evaluar el programa de cribado de HC en Nicaragua en términos de cobertura, efectividad de detección (valor predictivo positivo) y manejo de casos durante una década.
- II. Establecer el diagnóstico del HC de 42 niños identificados a través de la caracterización bioquímica, ecográfica y genética.
- III. Estudiar el estado nutricional del yodo en una población seleccionada de Nicaragua: escolares, mujeres embarazadas y recién nacidos y la relación de éste factor ambiental con la expresión clínica del HC.

III. MATERIALES Y METODOS

1. DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de corte transversal y descriptivo cuyo eje central es el programa de cribado neonatal para HC iniciado en el año 2005 en un hospital, al que se fueron adhiriendo otros hospitales hasta llegar a 10, localizados en las Zonas del Pacífico y Central de Nicaragua. Durante el periodo 2005-2015 se cribaron 271969 neonatos para HC. Además, durante el periodo 2015-2016, se estudiaron en una población seleccionada de Nicaragua 281 escolares de 3-7 años de edad procedentes de 2 escuelas públicas y 419 gestantes y 200 neonatos de dichas gestantes. Para el estudio genético se contactaron las familias de 42 niños con HC diagnosticado durante el período del estudio y 16 familiares de los pacientes.

Las variables cuantitativas recogidas fueron: edad (años), niveles de TSH, TT3, TT4 y Tg.

2. Recolección de datos

Las muestras de sangre del cordón umbilical se recogieron por el personal de las salas de partos, previamente capacitados, con una jeringuilla. Se depositaron tres gotas sobre papel de filtro Whatman 903 (Schleicher & Schuell, EE.UU.) y se almacenaron en cada hospital para su posterior envío al laboratorio centralizado para la determinación de TSH. El control de calidad de la recolección de muestras incluyó que la distribución de la sangre en círculos fuese uniforme y la ausencia de coágulos.

En la figura 9 se presenta un diagrama de flujo general para el cribado y la confirmación de los casos de HC. Para considerar una muestra positiva se eligió un punto de corte de 20 mU/l de TSH, un umbral frecuentemente utilizado en los programas en los que se utiliza muestras de sangre de cordón extraída inmediatamente después del parto (Abduljabbar et al., 2009; De Bernal et al., 2003; Vela et al., 2004). Dado que en otros programas se han un rango de 15 a 40 (Dussault, 1999; Manglik et al., 2005; Queiruga et al., 2011; Zarina et al., 2008). De 2009 a 2013, se realizó un ensayo para redefinir el umbral más eficiente para nuestro programa, reduciendo el punto de corte a 10 mU/l.

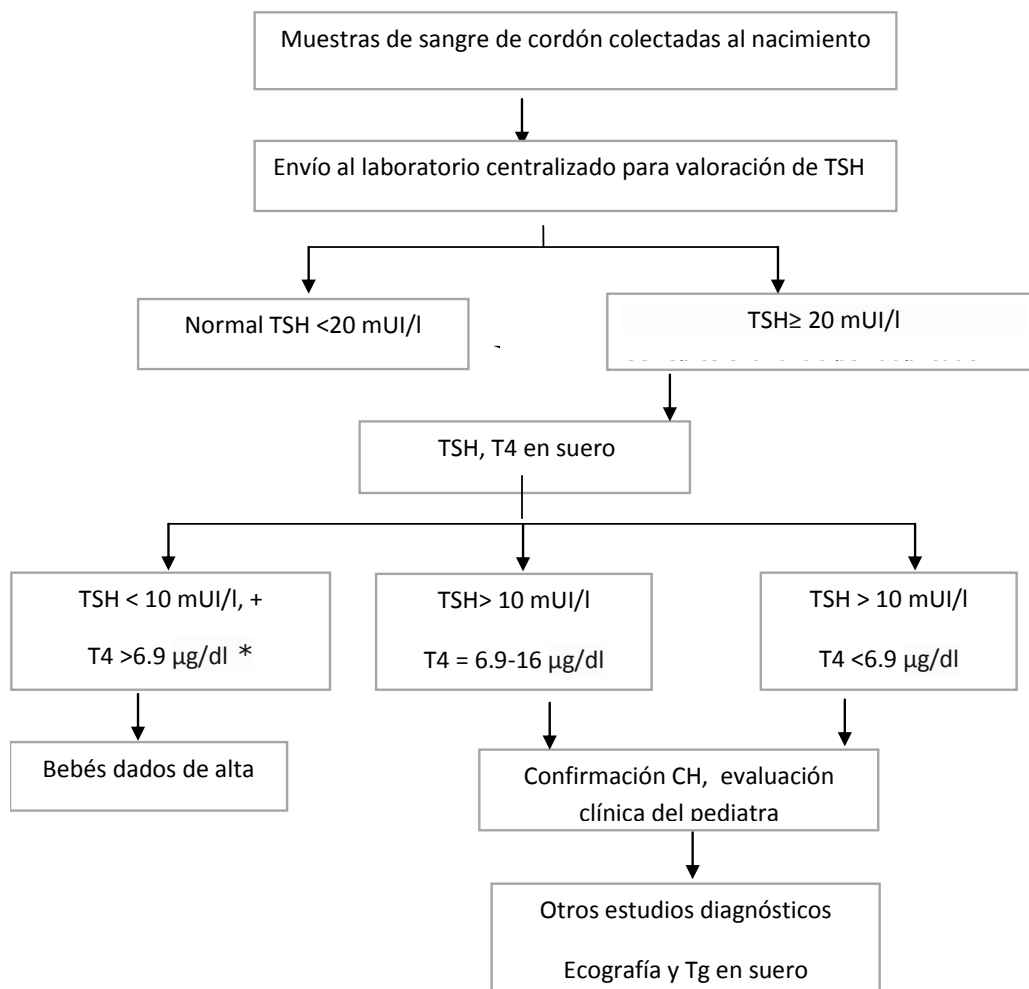


Figura 9. Diagrama de flujo para la detección de HC. El diagnóstico de HC comienza con un resultado anormal repetido de la TSH lo que conduce a la prueba de la función tiroidea en suero (TSH y T4) para la confirmación. Para determinar la etiología son necesarios otros estudios diagnósticos: ecografía y Tg. Valores de referencia de acuerdo a la edad (Djemli et al., 2003).

3. Determinación de TSH

Para la valoración de TSH, se utilizó la siguiente técnica desarrollada por los miembros del equipo español en el CNB y la UAH. Ya que el alto coste de los reactivos comerciales hacía imposible su adquisición. Se utilizó un ensayo inmunoenzimático tipo sándwich (ELISA) para la cuantificación de TSH neonatal de acuerdo con el siguiente protocolo:

- Se utilizaron placas de 96 pocillos (Greiner Bio-one high binding) que fueron revestidas con 100 µl de un anticuerpo monoclonal anti-TSH (3 µg/ml) en solución salina tamponada (TBS, 50 mM Tris-Cl, pH 7,4; 150 mM NaCl). Este anticuerpo reconocía un epítipo conformacional de la subunidad β de TSH. Las placas se incubaron durante 60 minutos a 37° C. Después de lavar cinco veces con TBS que contenía 0,05% de

Tween (TBST), los posibles sitios de unión inespecífica de las placas se bloquearon mediante incubación durante 60 minutos a 37°C con 200 µl de la misma solución conteniendo 0,5% de albúmina de suero bovino (Sigma Aldrich) (TBST-BSA) y se lavaron cinco veces con TBST.

- Se perforaron dos círculos de 3 mm de diámetro de las muestras de sangre seca de cordón (perforador DBS, Perkin Elmer, EE.UU.) junto con calibradores y controles internos (DELFA TSH neonatal), proporcionados por organizaciones de cribado neonatal de España, y se extrajeron en 200 µl de TBST-BSA por pocillo. Después de 60 minutos de agitación a temperatura ambiente y una noche a 4 °C, las placas se lavaron como se describió anteriormente, y se añadieron 100 µl de una mezcla de dos anticuerpos biotinilados dirigidos cada uno contra una subunidad diferente de la hormona (0,5 µg de cada uno de ellos/ ml) y se incubó durante una hora adicional a 37°C.
- Después del lavado, se añadieron 100 µl de polímero de estreptavidina-peroxidasa ultrasensible (Sigma Aldrich) diluido de 1 a 16.000 en TBST y se incubaron durante 1 h a 37°C. Después del lavado, se añadieron 100 µl de diclorhidrato de o-fenilendiamina (Sigma Fast OPD, Sigma-Aldrich), preparado según las instrucciones del fabricante y las placas se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad para desarrollar el color. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 µl de ácido sulfúrico 3N. Se midió la absorbancia a 405 nm utilizando un lector de microplacas Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). La concentración de TSH en las muestras se calculó automáticamente con software interno mediante curvas de calibración construidas con los calibradores mencionados anteriormente. La curva estándar con rango dinámico de medición fue 0,7-234 mU/l. Los límites de detección y cuantificación fueron de 1,5 mU/l y 5 mU/l, respectivamente. Las variaciones intra e inter-ensayo fueron 6 y 8%, respectivamente.
- Todos los anticuerpos fueron generados en el Departamento de Inmunología y Oncología CNB-CSIC, España por inmunización de ratones con la hormona completa. Los dirigidos contra la subunidad beta eran específicos para TSH (media de reactividad cruzada de 0,1% con LH, hCG y FSH) (Treviño et al., 2009).
- Cuando el valor de TSH del cribado fue superior al punto de corte, se analizaron las HT en suero y pruebas complementarias.

4. Hormonas tiroideas: confirmación de los casos sospechosos

A todos los niños positivos al cribado se les realizó un perfil hormonal que incluía niveles séricos de TSH, T4, T3 y estudios complementarios como Tg en suero (a partir de año 2014) y ecografía de tiroides (a partir de 2012). Los análisis se realizaron mediante extracción de 2 ml de sangre en zona antecubital entre las 7:00 y las 10:00 a.m. y, fueron analizados esa misma mañana en suero obtenido tras centrifugar la sangre. Se midió la TSH, la tiroxina total (T4) y la triyodotironina (T3) mediante ELISAs comerciales de Human Diagnostics, Alemania. La Tg se midió también por un método inmunoanálisis (AccuBind, USA). Los rangos de normalidad utilizados fueron los publicados en la literatura de acuerdo a la edad, por no tener valores propios para la población Nicaragüense: TSH: (Rastogi & LaFranchi, 2010; Djemli et al., 2003; Hubner et al., 2002; Kapelari et al., 2008, T4:Rastogi & LaFranchi, 2010), T3: Djemli et al., 2003) y Tg: Djemli et al., 2003.

Una vez confirmado el diagnóstico de HC, se comunicó a los pediatras encargados en los distintos hospitales de los pacientes con HC y se inició el tratamiento sustitutivo con levotiroxina y el seguimiento. Cuando los resultados del perfil tiroideo en suero fueron negativos, los niños fueron considerados falsos positivos (FP).

5. Clasificación de la gravedad del HC

Para la realización de este estudio se categorizaron los niños con HC, de acuerdo a la gravedad, según el criterio de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE), la severidad del HC puede ser medida como grave, moderada o leve basándose en los niveles de FT4 y T4 total en suero. (Tabla 6).

FT4	T4	Severidad
< 5,5 pmol/L	40 nmol/L	Grave
<10 pmol/L	72 nmol/L	Moderado
10 -15 pmol/L	72- 108 nmol/L	Leve

Tabla 6. Clasificación de la gravedad del HC basada en los niveles de tiroxina (tomado Léger et al., 2014)

Basándose en la ecografía, el HC primario grave sería aquel en el que hay ausencia o hipoplasia marcada de la glándula tiroides o defecto completo de organificación con bocio (Léger et al., 2014).

6. Análisis del desarrollo del programa de cribado HC de Nicaragua.

La cobertura relativa del programa fue determinada por la proporción entre el número total de bebés examinados y el número total de nacidos vivos en cada una de las provincias participantes, para lo cual se consultaron bases de datos nacionales del Ministerio de Salud de Nicaragua (www.minsa.gob.ni; ww.inide.gob.ni). La incidencia de HC se calculó como la relación entre el número de casos HC confirmados y el número total de neonatos examinados. El valor predictivo positivo (PPV) para el programa se calculó como el número de pacientes confirmados de HC dividido por el número total de niños reevaluados para la confirmación. El valor predictivo positivo y la tasa de FP evalúan la eficiencia de un programa de detección masiva.

7. Análisis molecular

En el laboratorio de Bioquímica de la UNAN-León Nicaragua, se aisló el ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica utilizando el kit para sangre Gentra Puregene (QIAGEN Sciences, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El material genético de los pacientes y sus familias, se analizó en el Laboratorio Molecular de Tiroides del Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM) del Hospital Universitario La Paz, Madrid. El estudio de genes candidatos se llevó a cabo mediante secuenciación SANGER. Se seleccionó cada uno de los genes teniendo en cuenta los datos del perfil tiroideo, la Tg y la ecografía (fig. 10).

Los exones de cada gen se amplificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando dos pares de cebadores, usando una mezcla de 19 μ l de mezcla principal de PCR 2x master mix (10 μ M de cada cebador), dimetilsulfóxido y 1 μ l de ADN genómico de 100 ng / μ l, para la amplificación de los exones. Los productos de la PCR se purificaron y secuenciaron a continuación. Los exones fueron secuenciados usando el kit de secuenciación de ciclo BigDye y un secuenciador automático (Applied Biosystems).

Las mutaciones identificadas fueron clasificados según criterio de frecuencia poblacional (población Americana) y descripción de las mutaciones en diferentes base de datos de variantes dbSNP, 1000 Genomes Project, Human Gene Mutation Database, ClinVar. Además todas las variantes fueron estudiadas con programa de predicción de patogenicidad (consensus classifiers for prediction of disease-related mutation (predictSNP)).

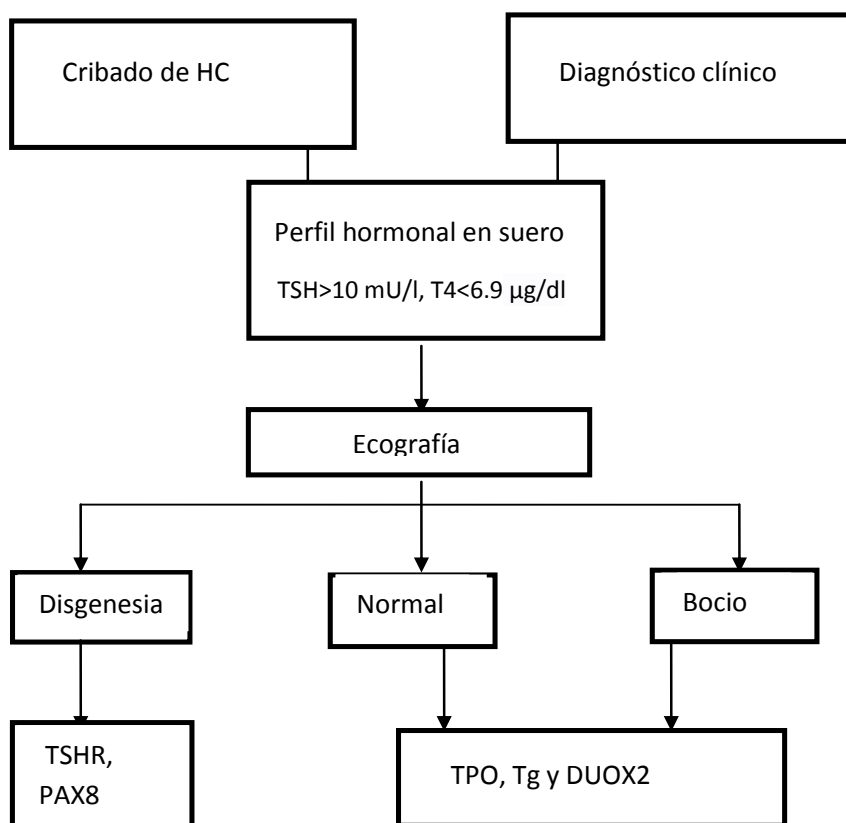


Figura 10 Algoritmo para la investigación de las bases genéticas del HC, gen del TSHR, PAX8, Tg, DUOX2, y TPO.

8. Ecografía tiroidea

A los niños diagnosticados de HC se les practicó una ecografía de tiroides, que realizó siempre el mismo radiólogo, usando un transductor de 7.5 MHz. (Mindray, digital ultrasonic diagnostic imaging system DP-2200, Hamburg, Germany). Se realizaron cortes axiales de la glándula en su totalidad. El radiólogo determinó el volumen del tiroides en (ml), que se obtuvo por la suma del volumen de ambos lóbulos tiroideos sin incluir el istmo, según la fórmula propuesta por varios autores: Volumen lóbulo en ml = (longitud cm x profundidad cm x anchura cm x 0.479) (Foo et al., 1999; Zimmermann et al., 2004; Zimmermann et al., 2001). Se tomaron en cuenta los valores de referencia de niños sanos de acuerdo a la edad (Foo et al., 1999; Zimmermann et al., 2004; Zimmermann et al., 2001).

9. Determinación del estado nutricional de yodo

9.1 Determinación de yodo en sal de consumo

Se analizó en dos periodos distintos, un total de 11 muestras de sal expendidas en los mercados y supermercados del país, que fueron trasladadas completamente selladas en su

envase y fueron analizadas en el laboratorio del Servicio de Análisis del Departamento de Productos Alimenticios del Centro de Investigación y Control de la Calidad (CICC) de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN), Madrid España. El contenido de yodo en sal fue expresado en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de sal.

9.2 Determinación de yodurias

Para la valoración del estado nutricional de yodo en la población de estudio se determinó yoduria en micción aislada de primera hora de la mañana en los escolares, y de momentos antes del parto en las gestantes. Para ello se utilizaron frascos estériles y las muestras se mantuvieron congeladas a -20°C . Para la determinación de yodurias se utilizó el método colorimétrico recomendado por la OMS-UNICEF y el ICIDD (WHO, 2001), basado en la reacción de Sandell-Kolthoff en la que el yodo en forma de yoduro actúa catalizando la reducción del ion cérico acoplado a la oxidación de arsenioso. El ion cérico en solución presenta color amarillo, en cambio su forma reducida es incolora. La desaparición del color amarillo es directamente proporcional a la cantidad de yodo presente en la muestra que reduce el cérico. Esta reacción es muy específica y posee alta sensibilidad. La muestra requiere previa digestión con persulfato de amonio que actúa oxidando ciertas sustancias (tiocianato, ion ferroso, nitratos etc., con el fin de eliminar posibles contaminantes que puedan interferir reduciendo u oxidando a las sustancias utilizadas en las reacciones redox. El resultado de la yoduria se expresó en $\mu\text{g}/\text{L}$. Para la valoración del estado nutricional, tanto en escolares como en gestantes, se utilizó la mediana de la excreción de la yoduria. Estos valores corresponden al 70-80% de la cantidad diaria de yodo ingerida.

10. Valoración de la función tiroidea en los neonatos

En los neonatos seleccionados se tomó muestra de sangre del cordón umbilical que fue centrifugada. El suero se guardó congelado a -20°C para el posterior análisis de TSH y Tg, que fueron medidas mediante reactivos comerciales anteriormente citados.

11. Análisis estadístico

Los datos recogidos durante el estudio fueron inicialmente anotados en una ficha por las enfermeras de los hospitales y, posteriormente, enviados al laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAN-León junto a la correspondiente muestra. Se creó una base de datos para el registro de muestras y los resultados obtenidos en el análisis. La muestra incluyó todos los recién nacidos que fueron cribados durante el periodo 2005-2015.

La recogida de datos de los escolares de las dos escuelas participantes y de las gestantes que acudieron al hospital durante el periodo de 2015-2016 y de sus respectivos neonatos fue realizada por la autora de esta memoria. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis descriptivo de las variables. Los datos se presentaron utilizando estadísticos de tendencia central y de dispersión: media y desviación típica o mediana. Las variables que seguían una distribución normal se describieron como media, mientras que, en caso contrario, se presentaron como mediana. Los datos correspondientes a las variables cualitativas se expresan como valor absoluto y en porcentaje (%).

La relación entre las variables continuas (ordinales) se estableció mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Para esta prueba se aceptó un nivel de significación inferior a 0.05 en contraste bilateral. El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS v 23.

11. CONSIDERACIONES ÉTICAS

En todos los casos fueron informados verbalmente y por escrito a las gestantes y familiares de los niños escolares, se firmó el consentimiento informado. Este estudio ha sido aprobado por el comité de ética del hospital de León, Nicaragua.

Financiación.

Este proyecto fue financiado por La Agencia Española de Cooperación al Desarrollo, la Fundación Abbott, la Universidad de Alcalá de Henares y el Gobierno de la Comunidad de Madrid. Se declara que no hay conflictos de intereses.

IV. Resultados

Estudio I: Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito en Nicaragua: evaluación de un programa con 10 años de experiencia (2005-2015).

1. Cobertura y valor predictivo positivo del programa de detección e incidencia de HC en Nicaragua.

En el primer año de ejecución, el programa de detección precoz del HC en Nicaragua abarcó sólo una provincia (León), con un único hospital de referencia que centraliza la gran mayoría de los nacimientos en un solo hospital. Posteriormente, otras provincias fueron integradas en el programa, con un máximo de 10 provincias participantes en el mejor año de desarrollo del cribado. Estas se concentran en las regiones de la Costa del Pacífico y Central, las más densamente pobladas, mientras que las de la costa Atlántico-Caribe y algunas de la región central no lograron participar (Fig. 11). En 2009 y 2010 se consiguió la cobertura geográfica más amplia de la historia del programa que, al no ser de naturaleza obligatoria y no contar con el apoyo en el sistema nacional de salud, ha visto mermada posteriormente su actividad en diversos territorios del país (Tabla 7).



Figura 11. Provincias en Nicaragua con participación en el programa de cribado neonatal para Hipotiroidismo Congénito. El mapa nacional de Nicaragua refleja en tonalidades de gris la 10 provincias de las 17 en el país que participaron en el programa en algún momento entre los años 2005-2015. Estas se concentran en la región de la costa del Pacífico y región central del país, las mas densamente pobladas, mientras que las regiones atlánticas y algunas Centrales del Sur, nunca lograron su participacion en el programa de tamizaje.

Las características demográficas de la población cubierta por el programa neonatal de detección de hipotiroidismo congénito y los resultados del programa, a lo largo de sus 10 años de duración (2005-2015), se resumen en la Tabla 7. Globalmente, 271.969 niños fueron examinados para HC en 10 años, lo que representa una cobertura promedio de 71% de los nacidos vivos en las provincias participantes (Tabla 7). La cobertura del programa aumentó desde el 55% en el primer año de implantación, hasta un máximo de 87% en los años de mejor desempeño. Sin embargo, cuando se considera el número total de nacidos vivos en todo el país, en los 10 años del programa, tan solo un 18,1% de los recién nacidos nicaragüenses se beneficiaron del cribado.

En el período de estudio, 153 muestras fueron positivas al cribado de HC (TSH en los eluatos de sangre del cordón, con punto de corte ≥ 20 mUI/l) lo que representa un promedio de 0,06% de todas las muestras analizadas durante los 10 años. Este porcentaje de casos positivos disminuyó progresivamente de 0,3% a 0,04% en años en los que se analizaron más de 25,000 muestras (Tabla 7). El porcentaje medio de muestras de sangre inadecuadamente recogidas y no adecuadas para la determinación de TSH fue del 5,9% de media en el período de estudio. La experiencia adquirida en la recogida de muestras de sangre en papel de filtro condujo a una disminución de esta tasa desde el 12,5% inicial de muestras inadecuadas al 2,3% en los años más recientes (Tabla 7).

El número total de bebés re-examinados para confirmación sérica del HC fue de 96, lo que representa un promedio del 63% de éxito de la búsqueda (o “re-llamada”) de casos positivos durante el período de 10 años estudiado, que varió entre el 42% y el 82% (Tabla 7). Debemos tener en cuenta que esta tasa relativamente baja de niños retestados puede deberse a que existe una tasa muy alta de muerte infantil temprana en nuestra cohorte de bebés positivos en el cribado (12 de 153, es decir un 7.8%).

De 96 niños reevaluados para las hormonas séricas, 80 fueron confirmados como hipotiroidismos congénitos o hipertirotropinemias congénitas, mostrando TSH elevada y T4 total disminuida o bien elevación aislada de TSH, respectivamente. Estos datos indican una prevalencia estimada de hipotiroidismo congénito en Nicaragua de 1 en 3399 nacidos vivos estudiados. Esta prevalencia está en concordancia con la prevalencia de HC en otros países de Latinoamérica, aunque en el rango bajo de lo descrito en otros países del mundo (Rastogi & LaFranchi, 2010; LaFranchi, 2014). Estos datos reflejan una tasa relativamente baja de falsos positivos (PF) (16 de 96 retestados, un 17%) y un 83% de valor predictivo positivo del programa de cribado nicaragüense.

Años	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total (media)
DEMOGRAFIA												
Provincias ¹	1	3	5	9	10	10	9	6	6	6	6	
Nacidos vivos	3.761	7.876	21.287	43.310	48.311	44.383	49.844	44.093	38.990	40.713	40.085	382.653
Niños cribados	2.081	4.761	14.822	29.455	39.305	38.791	33.939	30.833	25.931	26.495	25.925	271.969
Cobertura (%)	(55)	(60)	(70)	(68)	(81)	(87)	(68)	(70)	(67)	(65)	(65)	(70.8)
CRIBADO												
Muestras positivas	4	13	8	13	21	17	12	12	21	21	11	153
Muestras positivas (%)	(0.2)	(0.3)	(0.1)	(0.04)	(0.1)	(0.04)	(0.04)	(0.04)	(0.1)	(0.1)	(0.04)	(0.06)
Muestras inadecuadas ²	261	269	1312	2.076	2.357	2.078	937	1.367	795	620	1.925	14.024
Muestras inadecuadas (%)	(12.5)	(4.9)	(8.8)	(7)	(5.9)	(5.4)	(2.8)	(4.4)	(3.1)	(2.3)	(7.4)	(5.9)
CONFIRMACION												
Niños retestados ³	3	7	6	8	9	12	6	5	15	16	9	96
Tasa de rellamado (%)	(75)	(54)	(75)	(62)	(43)	(71)	(50)	(42)	(71)	(76)	(82)	(63)
Niños Fallecidos ⁴	-	-	1	-	1	1	4	1	3	-	1	12
Niños con HC	3	7	6	8	7	9	5	3	12	14	6	80
Falsos positivos	-	-	-	-	2	3	1	2	3	2	3	16
Falsos positivos (%)	-	-	-	-	22	25	16	40	20	12.5	33	(16.7)

Tabla 7. Características y resultados del cribado neonatal de Hipotiroidismo Congénito en Nicaragua en un período de 10 años (2005-2015). ¹ El número de provincias Nicaragüenses participantes en el programa de cribado por años. ² Las muestras no aptas para determinación de TSH, por técnica defectuosa en la recogida de sangre en el papel de filtro. ³ Los niños retestados para confirmación sérica de HC no considera los niños fallecidos en el rellamado para la confirmación. ⁴ Los niños fallecidos antes del rellamado para confirmar el HC en suero.

2. Sensibilidad del programa de cribado para casos de HC moderados.

Los programas de cribado de HC basados en la colección de muestras de sangre del cordón umbilical en el parto, un momento de la vida en que la TSH se incrementa fisiológicamente (Zarina et al., 2008; Rastogi & La Franchi, 2010; Buykgebiz et al., 2013), tienen una limitación particular para establecer el nivel de corte de TSH más eficiente para conseguir la tasa de identificación de HC más alta posible y evitar el coste de una tasa excesiva de FP (Marrero et al., 2000).

Para investigar la sensibilidad del programa nicaragüense hacia los casos de severidad moderada del hipotiroidismo, incluyendo la hipertirotropinemia (HT), se clasificaron las muestras positivas en el cribado en 3 grupos: aquellos que tenían 20 a 39 mU/l de TSH, los que tenían concentraciones entre 40 -100 mU/l y los que excedían 100 mU/l de TSH (Tabla 8). Luego se analizó retrospectivamente el porcentaje de casos confirmados como HC (TSH elevada, T4 baja), HT (TSH elevada, T4 normal) o FP (TSH y T4 normales) en cada categoría (Tabla 8). De los 96 niños reexaminados para el perfil tiroideo en suero, el 70.8% tenía HC, el 12,5% presentó HT y el 16,7% fueron FP (Tabla 8). En este análisis hay que considerar si la tasa de retestaje (confirmación sérica) pudiera diferir entre estos grupos establecidos con diferentes rangos de TSH al cribado. Y, efectivamente, esta tasa varió ostensiblemente entre los grupos. Mientras que la mayoría de los bebés positivos al cribado con TSH de sangre del cordón umbilical superior a 40 mU/l (95%) lograron ser re-examinados con el perfil sérico, sólo el 29% de los bebés positivos pero con TSHs de <40 mU/ llegaron realmente a realizarse la confirmación sérica (Fig. 12). Esto sugiere que los niños con hipotiroidismos supuestamente más severos son los que preferencialmente llegan a ser retestados, quizás por una percepción familiar de enfermedad grave por parte de sus padres, y que ésta percepción de enfermedad grave no la tienen padres que, en medio de las dificultades socio-económicas generales del país, no consideran necesario acudir a la confirmación de la enfermedad.

Doce bebés con hipertirotropinemia (HT) congénita fueron detectados por el programa (Tabla 8). La mayoría de los casos con HT (68%) fueron encontrados en el grupo con nivel de TSH entre 20-39 mU/l, pero no exclusivamente. Cuatro casos con HT fueron detectados con TSH neonatal superior a 40 mU/l. Un caso notablemente elevado de TSH de sangre de cordón umbilical (280 mU/l) evolucionó hacia una hipertirotropinemia eutiroidea leve, mantenida en el tiempo con una TSH de 26 mU/l y una T4 de 9.3 µg /dl (Tabla 8.)

Cribado Neonatal de HC 2005-2015 (punto de corte 20 mIU/l)														
		TSH 20-39 mU/l				TSH 40-100 mU/l				TSH > 100 mU/l				Total
Muestras positivas		n= 75				n= 41				n= 37				153
Niños retestados		n= 22				n=39				n= 35				96
Tasa de retestado (%)		(29%)				(95%)				(95%)				
		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	68 (70,8%)
HC	cTSH mU/l	28.5	3.5	25-34	5	67	19.4	40-98	30	158	44,0	102-239	33	
	sTSH mU/l	354	374.4	4.9-750	3	535	482	1,5-1400	20	546.7	646.9	64-2775	21	
	T4T µg/dl	1,9	2,5	0,4-4,8	3	0,6	0,4	0.4-1.7	20	0,4	0,2	0.1-1	20	
	T3T ng/ml	0,6	0,6	0.2-1,3	3	0,5	0.5	0.17-1.8	20	0.2	0.2	0.2-0.8	20	
		n=5 (7,4%)				n=30 (44,1%)				n=33 (48,5%)				
		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	12 (12,5%)
HT	cTSH mU/l	24.9	3.0	22-29	8	68,7	27,2	52-100	3	280	-	-	1	
	sTSH mU/l	15,6	5,1	10-25	8	19,3	9,2	14-30	3	26	-	-	1	
	T4T µg/dl	10.2	2.1	8.3-13,6	6	9.8	3.2	7,5-12	2	9,3	-	-	1	
	T3T ng/ml	1.9	0.3	1.6-2.3	5	1.6	1.0	0.9-2.3	2	-	-	-	-	
		n=8 (66,7%)				n=3 (25%)				n=1 (8,3%)				
		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	16 (16,7%)
FP	cTSH mU/l	26,8	5,0	20-34	9	56	22,4	44-100	6	253	-	-	1	
	sTSH mU/l	3,4	1.4	2,2 - 6.5	9	3,0	0,9	2,0-3,5	6	4,9	-	-	1	
	T4T µg/dl	10,9	1,8	8,6-13	6	10,1	2,5	8,6-13	3	13	-	-	1	
	T3T ng/ml	2,0	0.3	1.7- 2,4	7	1,6	0,3	1,4-1,9	3	1,2	-	-	1	
		n=9 (56,25%)				n=6 (37,5%)				n=1 (6,25%)				

Tabla 8. Perfil tiroideo de los niños positivos en el cribado categorizados con sangre del cordón umbilical TSH 20-39, 40-100; > 100 mIU / ml. Los rangos de referencia en la TSH sérica son: <10 mU/l (Hubner et al 2002; Djemli et al., 2003; Kapelari et a.,I 2008; Rastogi M & LaFranchi 2010), para la T4: 6,9-16 µg/dl; (Rastogi M & LaFranchi, 2010) y para la T3 = 0,9-2,4 ng/ml.(Djemli et al; 2003).

En cuanto a los casos FP, la mayoría de los bebés habían mostrado una TSH neonatal <40 mU/l (56%), pero un sustancial 37% tenía la TSH de cordón superior a 40 mU/l. Este hecho tiene probable relación con la circunstancia antes aludida de la dificultad de establecer cutoffs muy eficaces de TSH cuando estrategia de los programas es la utilización de sangre de cordón, inmediatamente postnatal.

En un intento de aumentar la tasa de detección de casos moderados/leves de hipotiroidismo, se implementó un ensayo de 4 años (2009-2013), reduciendo el valor límite de TSH a 10 mU/l. La Tabla 9 muestra los resultados de dicho ensayo, comparando el porcentaje de niños con HC, HT y los FP identificados en 3 grupos diferentes de bebés con TSHs entre 10-19 (nuevo rango analizado), 20-40 y > 40 mU/l en el cribado. Dentro de este nuevo rango de positividad para el cribado (TSH: 10-20 mU/l) sólo se identificaron casos FP (Tabla 9]. Por tanto, la reducción de la

TSH de punto de corte de 20 a otro de 10 mU/l no mejoró la tasa de detección de los pacientes, ya con HC ya con HT, mientras que empeoró el valor predictivo positivo del programa desde un 83% a un 62,5%. Estos resultados indican que el punto de corte de 20 mU/l, es el umbral más eficiente para la detección de HC con la estrategia de determinación de TSH en sangre del cordón umbilical, en el programa Nicaragüense. Esto está de acuerdo con otros ensayos de eficiencia realizados en otros países usando sangre de cordón umbilical para el cribado de HC (Marrero et al., 2000; Kumar et al., 2005).

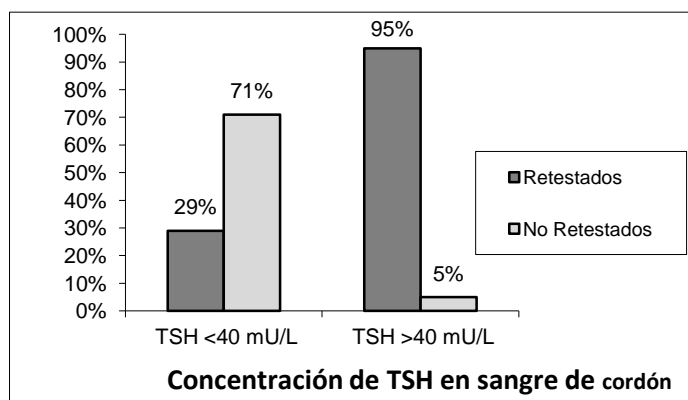


Figura 12. Porcentaje de niños reexaminados versus no reexaminados que habían sido positivos en el cribado de HC, considerando su nivel de TSH de sangre de cordón (<40 o >40 mU / l).

3. Clasificación de la gravedad del HC

Según los criterios de ESPE para la categorización de la gravedad del HC (métodos), la gran mayoría de los pacientes (81%) detectados por el programa de cribado nicaragüense son severamente hipotiroideos. De hecho, la correlación entre los valores de TSH en la sangre del cordón umbilical o en suero a la confirmación y la T4 sérica muestra que, a lo largo de todos los niveles de TSH, la mayoría de los pacientes detectados con HC tienen T4 casi indetectable y valores de TSH elevados (Fig. 13 A, C), con una correlación significativa mayor con la TSH sérica que con la de cordón, en el caso de la T3 también se presentan valores casi indetectables con una correlación significativa similar tanto con la TSH sérica como con la del cordón (Fig. 13 B, D), aunque los valores bajos de T4 y T3 también podría verse influenciado por el excesivo lapso de tiempo que puede ocurrir entre positividad al cribado y reexaminado hormonal sérico

Cribado Neonatal de HC 2009-2013 (punto de corte 10 mU /l)														
		TSH 10-20 mU/l				TSH 20-40 mU/l				TSH > 40 mU/l				Total
Muestras positivas		115				38				40				193
Niños retestados		n=32				n=17				n=37				86
Tasa Retestados (%)		(27.8%)				(44.5%)				(92.5%)				
		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	36 (42%)
HC	cbTSH mU/l	-	-	-	0	29,4	3,4	26,5 -34	4	118,4	58,5	46-239	32	
	sTSH mU/l	-	-	-	-	299,5	321	50-750	4	286,9	333,8	54 -1400	32	
	T4T µg/dl	-	-	-	-	0,4	-	0,4	2	0,4	0,2	0,1 – 1,0	22	
	T3T ng/ml	-	-	-	-	0,2	-	0,2	2	0,3	0,1	0,1 -0,6	21	
HT		n=0				n=4 (11%)				n=32 (89%)				9 (10.5%)
		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	
	cbTSH mU/l	-	-	-	0	21,1	3,0	20-28	7	77	32,5	54-100	2	
	sTSH mU/l	-	-	-	-	16,4	4,1	10- 22	7	22	11,3	14-30	2	
	T4T µg/dl	-	-	-	-	10,1	2,1	8,3 -13,6	6	12		-	1	
	T3T ng/ml	-	-	-	-	1,9	0,3	1,7-2,3	4	2,3		-	1	
		n=0				n=7 (78%)				n=2 (22%)				
FP		M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	M	DS	Rango	n	41 (47.5%)
	cbTSH mU/l	14	2,4	10-18	32	24,8	5,4	20-34	6	113,7	120,7	44-253	3	
	sTSH mU/l	4,0	1.6	1.4 – 8.3	32	2,2	1,9	2,2-6,8	6	3,5	2,1	2-4,9	3	
	T4T µg/dl	12,5	1.1	11 -15	32	11,9	2,2	8,6-14	5	10,8	13	8,6-13	2	
	T3T ng/ml	1,8	0,4	1,2 -2,6	32	2,2	0,3	1,7-2,4	5	1,3	0,1	1,2-1,4	2	
		n=32 (78%)				n=6 (14,6%)				n=3 (7,3%)				

Tabla 9. Perfil tiroideo de los niños positivos en el cribado categorizados con sangre del cordón umbilical. TSH 10-19, 20-40; > 40 mU /l. Los rangos de referencia en la TSH sérica <10 mU/l (Hubner et al., 2002; Djemli et al., 2003; Kapelari et al., 2008; Rastogi & LaFranchi, 2010), T4: 6,9-16 µg/dl; (Rastogi & LaFranchi, 2010), T3 = 0,9-2,4 ng / ml. (Djemli et al., 2003).

También se mostró que la media de TSH neonatal de los niños que no asistieron a la llamada para ser reexaminados (bebés "no retestado") fue significativamente menor que la TSH de los niños retestado (Fig. 12). Esto sugiere dos circunstancias: una que los familiares de los niños que son levemente afectados no observan ningún signo clínico y por tanto no se presentan al llamado, y la otra es que al ser un programa no oficial por el ministerio de salud nacional, estos no informan a las madres sobre la prueba y el posible llamado en caso de sospecha de HC.

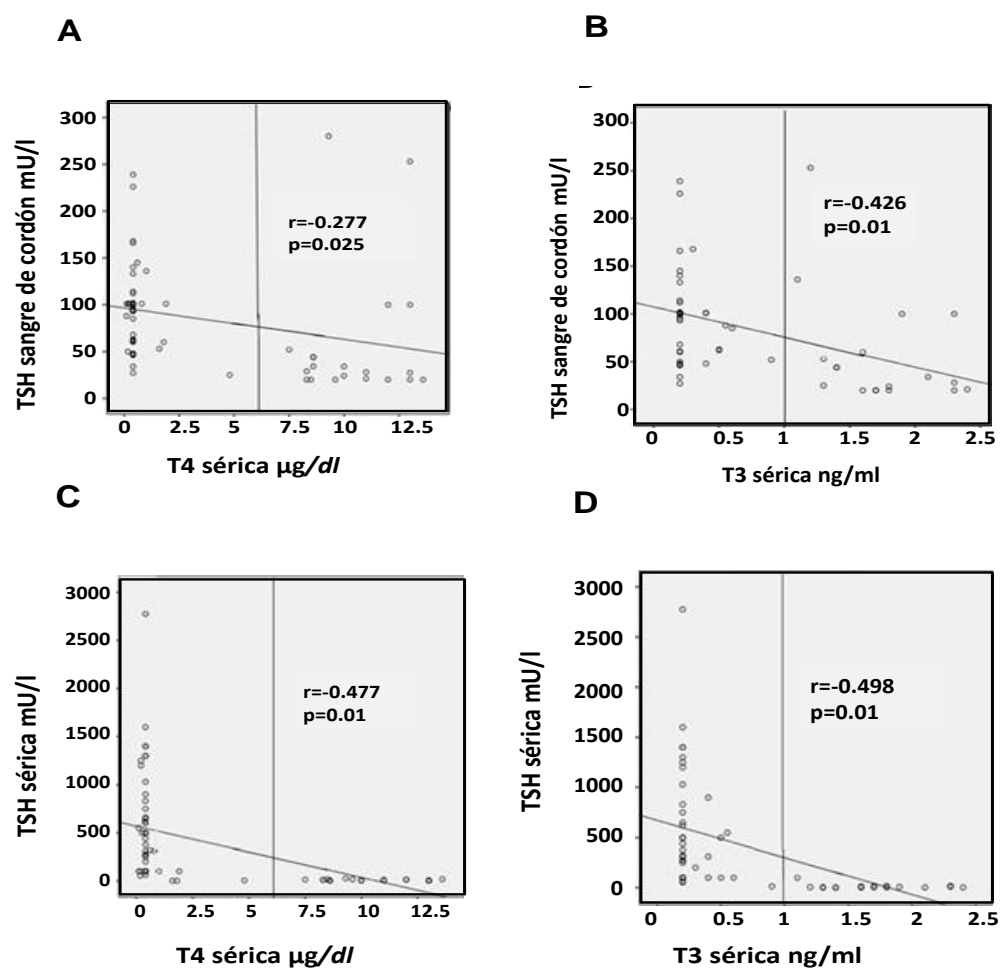


Fig. 13 Correlaciones entre la concentración de TSH en sangre de cordón (al cribado de HC) o de TSH en suero (a la confirmación de HC) y las hormonas tiroideas T4 y T3 (a la confirmación de HC). (A) Correlación entre TSH de la sangre del cordón (cb) y T4 en suero ($p=0.025$ $r=-0.277$). (B) Correlación entre la TSH (cb) y T3 en suero ($p=0.01$ $r=-0.426$). (C) Correlación TSH en suero y T4 ($p=0.01$ $r=-0.477$). (D) Correlación entre TSH en suero y T3 ($p=0.01$ $r=-0.498$)

4. Tiempo de diagnóstico e inicio de tratamiento de los niños con HC

El lapso entre la fecha de nacimiento y el inicio del tratamiento con L-tiroxina fue inferior a 15 días en el 15% de los casos, 15-30 días en el 10% y más de 30 días en el 75% de los niños (Tabla 10). El inicio promedio del tratamiento fue de 57 ± 34 días desde el nacimiento, con rango de 10-120 días. Esto contribuye al hecho de que los niños confirmados séricamente presenten T4 séricas muy bajas, por el hipotiroidismo no tratado durante un lapso temporal excesivamente prolongado.

Edad diagnóstico con TSH sérica e inicio del tratamiento	Número de casos	Porcentaje
< 15 días	12	15%
15-30 días	8	10%
>30 días	60	75%
Total	80	

Tabla 10. Edad de los recién nacidos a la confirmación sérica del HC e inicio del tratamiento.

Estudio II. Clasificación etiológica y caracterización molecular del hipotiroidismo congénito de niños diagnosticados en Nicaragua en 2005-2015.

Este estudio persigue investigar la base genética de los hipotiroidismos congénitos en Nicaragua e intentar establecer un correlato genotipo-fenotipo con las características clínicas de los pacientes recogidas por sus pediatras en Nicaragua. En especial se persigue corroborar desde la genética, el hallazgo derivado del análisis del cribado neonatal (Estudio I) y la impresión clínica de que los pacientes identificados a través de la estrategia de cribado con sangre de cordón corresponde con los de mayor severidad del hipotiroidismo congénito. Para ello, hemos comparado las mutaciones en genes tiroideos (monoalélicas, bialélicas) con parámetros que puedan estar informando de la gravedad intrínseca del HC de cada paciente, tanto al cribado (nivel de TSH de cordón), como a la confirmación sérica (niveles de TSH, T4, T3). En nuestro conocimiento, es la primera ocasión en que se acomete un estudio genético de pacientes hipotiroideos identificados a través de un programa de cribado basado en TSH de cordón.

1. Características hormonales y ecográficas de los pacientes

Los pacientes sometidos a estudio genético fueron 41, de éstos 31 del cribado neonatal, los cuales en el 83% presentaron concentraciones en sangre de cordón por encima de 40 mU/l, rango (20-279 mU/l) y el resto 11 pacientes fueron diagnosticado tardíamente. Los perfiles hormonales tiroideos y ecográficos de los 41 pacientes que también se sometieron a genotipado de mutaciones en genes tiroideos se presentan en la Tabla 11. Se dispone del perfil tiroideo completo en 39 pacientes. La TSH sérica en el 85% con concentraciones por encima de 40 mU/l con un rango (4.7-2775 mU/l) y en el 87% de casos los valores de T4 total en suero fueron inferiores a 40 nmol/l (3,13 µg/dl) (rango entre 0.4-12), que según los criterios consenso de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE) indican un hipotiroidismo congénito severo (Léger et al, 2014).

Los resultados de la ecografía revelaron 16 niños (55%) con disgenesia tiroidea (hipoplasia severa), 4 (14%) con bocio y 9 niños (31%) con glándula tiroidea de tamaño normal (Tabla 11). Aunque puede existir un sesgo en la indicación de esta determinación por parte de los doctores nicaragüenses hacia niños con glándula in situ normal o aumentada de tamaño, Los niveles de tiroglobulina sérica (Tg) fueron muy elevados, de media de 546 ng/ml, con rangos entre 40-1800 ng/ml, en un total de 16 niños (38%) de la cohorte (Tabla 11), la mayoría de las determinaciones muestran una Tg sérica elevadísima, lo que es informativo sobre: **a.** la

severidad del hipotiroidismo primario, **b.** la alta sospecha de dishormonogénesis severa como etiología muy prevalente del hipotiroidismo en esta cohorte. Esto último a pesar de que en un porcentaje elevado de ecografías se diagnosticó un volumen tiroideo disminuido. Este último dato está en probable relación con el hecho de que las ecografías no se realizaron en el momento del diagnóstico sino a veces tras muchos años de tratamiento sustitutivo con hormona tiroidea, lo que puede haber anulado el estímulo trófico de la TSH sobre la glándula.

2. Estudio genético

En el estudio genético realizado se utilizaron técnicas clásicas de genotipado, como PCR y secuenciación Sanger (para los genes TPO, TG, DUOX2, TSHR y PAX8).

Se identificaron mutaciones en 12 pacientes de 11 familias de la cohorte (29%) en los genes que codifican el Receptor de TSH (TSHR) (en 1 paciente, # 2), la Tiroperoxidasa (TPO) (en pacientes, #, 9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30), como se presenta en la Tabla 11. Es de destacar el altísimo grado de consanguinidad identificado en las familias de los pacientes en que se encontraron estas mutaciones (6 de 11: 54%) (Fig. 14 de los pedigríes).

Gen TPO

La mayoría de las mutaciones se identificaron en el gen de la Tiroperoxidasa (TPO). Se identificaron cuatro mutaciones diferentes en el gen de TPO, en 11 de los 16 pacientes estudiados (69%). Dos mutaciones se han descrito anteriormente, la primera en el exón 8 c.1274 A> G (p.N425S) y la segunda c.2578G> A (p.G860R) en el exón 15. La mayoría de las mutaciones se identificaron en el gen de la Tiroperoxidasa (TPO). Otras 2 variantes son previamente no descritas c.962C> A (T321N) y c.1263T> C (L391P) en el exón 8. Se evidenció que 5 de estas 9 familias eran consanguíneas, y, consecuentemente, se identificó que cinco pacientes eran homocigotos, cinco pacientes heterocigotos compuestos y un paciente heterocigoto (Fig. 14). Los pacientes de las familias (F 22, 24, 26, 28, 30) presentaron la mutación en homocigosis en el exón 8 p.N425S, ocurriendo un cambio de A por G en la posición de nucleótidos c.1274 A> G, resultando en un cambio de aminoácido de asparagina a serina en el codón 425 (p.N425S). En la Fig. 15 se muestra la secuencia normal, secuencia en heterocigosis y en homocigosis respectivamente, de acuerdo con los parámetros bioquímicos de estos pacientes, y basándose en los criterios de ESPE, todos estos pacientes tenían una HC severo.

P		cTSH mUI/l	sTSH mUI/l	sT4 µg/dl	sTg ng/ml	Edad Diagnóstico	Edad ecografía	Glándula tiroides	Volumen glándula * (ml)	Tamaño glándula (P) *	Resultados genéticos
1	♀	114	650	0.4		0.4	1.2	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	TSHR C398G / C398G
2	♂	63	>47	0.4		0.1	5	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	
3	♀	-	500	0.4		10 d	1.4	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	
4	♂	60	250	0.4		0.2	3	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	
5	♂	226	>100	0.4		0.1	7	Hipoplasia	0.1	P3 ^{b, c}	
6	♀	61	100	0.4		0.2	2	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	TPO L391P
7	♀	145	320	0.6		0.4	7	Hipoplasia	0.1	P3 ^{b, c}	
8	♀	94	660	0.4		0.2	2	Hipoplasia	0.1	P3 ^a	
9	♀	34	308	0.4		10 d	9	Hipoplasia	0.2	P3 ^{b, c}	
10	♀	100	600	0.4	170	23 d	0.9	Hipoplasia	0.2	P3 ^a	
11	♂	105	440	0.4	112	0.25	0.7	Hipoplasia	0.3	P3 ^a	TPO N425S / T321N
12	♂	140	64	0.4		0.1	8	Hipoplasia	0.3	P3 ^b	
13	♀	90	900	0.4	40	0.3	0.8	Hipoplasia	0.3	P3 ^a	
14	♀	-	54	0.4		1.4	7.7	Hipoplasia	0.4	P3 ^b	
15	♂	48	271	0.4		1.2	4	Hipoplasia	0.4	P3 ^a	
16	♂	100	>101	0.4		15 d	2	Hipoplasia	0.6	P3 ^a	TPO N425S / N425S
17	♂	95	>100	0.4		0.2	2.6	Normal	1.2	p25 ^a	
18	♀	27	750	0.4		0.2	2	Normal	0.5	p25 ^a	
19	♀	20	14	12		0.2	0.6	Normal	0.6	p25 ^a	
20	♂	-	4.9	4.8		10 d	1	Normal	0.9	p25 ^a	
21	♀	-	-	-		1	13	Normal	2.6	p25 ^a	TPO N425S / N425S
22	♀	88	550	0.4		0.4	3	Normal	0.96	p25	
23	♀	112	830	0.4	570	0.4	0.5	Normal	1.15	p25 ^a	
24	♀	166	500	0.4	550	15 d	7	Normal	1.9	p75 ^a	
25	♀	-	-	-		5	14	Normal	4.49	p75 ^a	
26	♂	62	>100	0.4	685	0.3	5.6	Bocio	3.93	p97 ^a	TPO N425S / T321N
27	♂	102	1030	0.4	1800	0.2	1.1	Bocio	2.3	p97 ^a	
28	♀	-	2775	0.4	750	0.2	1	Bocio	1.7	p97 ^a	
29	♂	100	1300	0.4	>100	22 d	5	Bocio	3.8	p97 ^a	
30	♂	100	>100	0.1	1000	0.1	-				
31	♀	279	26	9.3		11 d	-				TPO N425S / N425S
32	♀	85	1400	0.4	200	0.3	-				
33	♂	90	1400	0.4	160	1	-				
34	♀	112	1600	0.4	150	0.5	-				
35	♂	100	>100	0.4		0.4	-				
36	♂	34	12	11		0.3	-				TPO N425S / N425S
37	♀	-	>100	0.4		3	-				
38	♂	50	1.9	0.4		0.4	-				
39	♀	-	1200	0.4	400	8	-				
40	♀	-	1250	0.4	1500	8	-				
41	♀	-	9.7	8.5	90	0.3	-				
n=41		31	39	39	16		29		29		12

Tabla 11. Características bioquímicas, ecográficas y mutaciones identificadas en los genes TSHR y TPO en los pacientes con HC nicaragüenses. La mayoría de los pacientes fueron detectados en el cribado con cTSH (sangre del cordón umbilical >20 mU/l), 11 pacientes a edades de 2 meses y 5 años. La ecografía fue realizada entre los 2 meses de vida (al diagnóstico) y los 13 años. El volumen de la glándula tiroides en ml fue calculada con la fórmula (ancho x largo x profundidad x 0.479) y el rango de normalidad utilizado fue de acuerdo a la edad: 1m -2 años (0.39-1.71ml) [12], 3-6 años (0.9-3.5ml) [12], 7-10 años (1.3-4.7ml), (P, percentil. ^a Gonzalez M. et al. 2006; ^b Foo et al 1999; ^c Zimmermann et al 2001; Zimmermann et al, 2003. TSH< 10 mU/L (Hubner et al., 2002; Djemli et al., 2003; Kapelari et al., 2008; Rastogi & LaFranchi, 2010), T4: 6.9-16 µg/dl (Rastogi & LaFranchi, 2010), Tg < 100 ng/ml en neonatas 1-24 meses ng/ml (Djemli et al., 2003). (p) pacientes identificados del 1-41 son indicados como familias en los pedigrees.

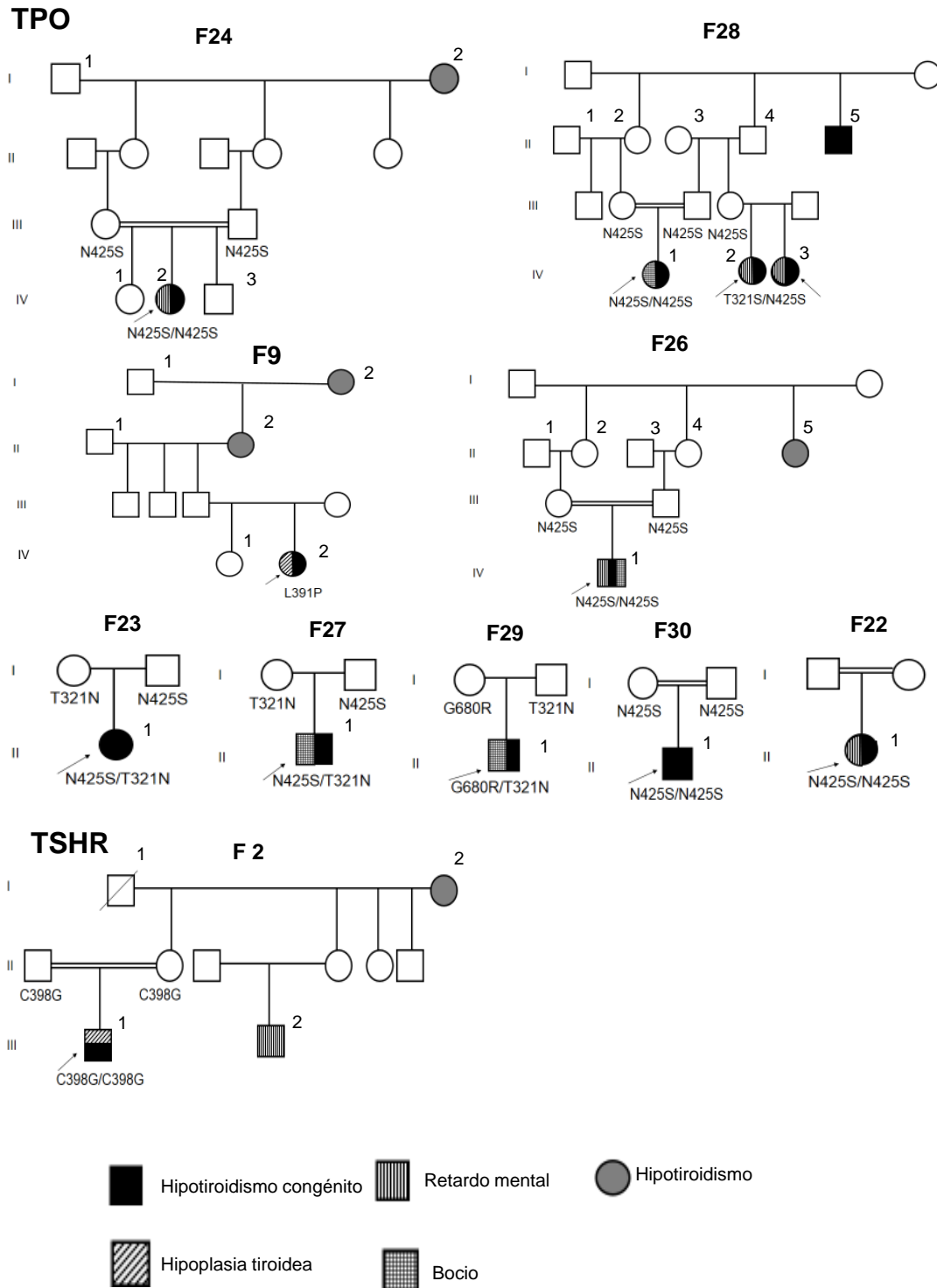


Figura 14. Pedigríes fenotípicos de las familias con mutaciones en los genes de *TPO* (9 familias), *TSHR* (1 familia). Las características del hipotiroidismo, por individuos se muestran en negro, gris y patrones de líneas verticales, diagonales y cuadrados (leyenda). Los casos índices se señalan con una flecha. Los enlaces consanguíneos evidenciados o declarados por los padres se representan con una doble línea.

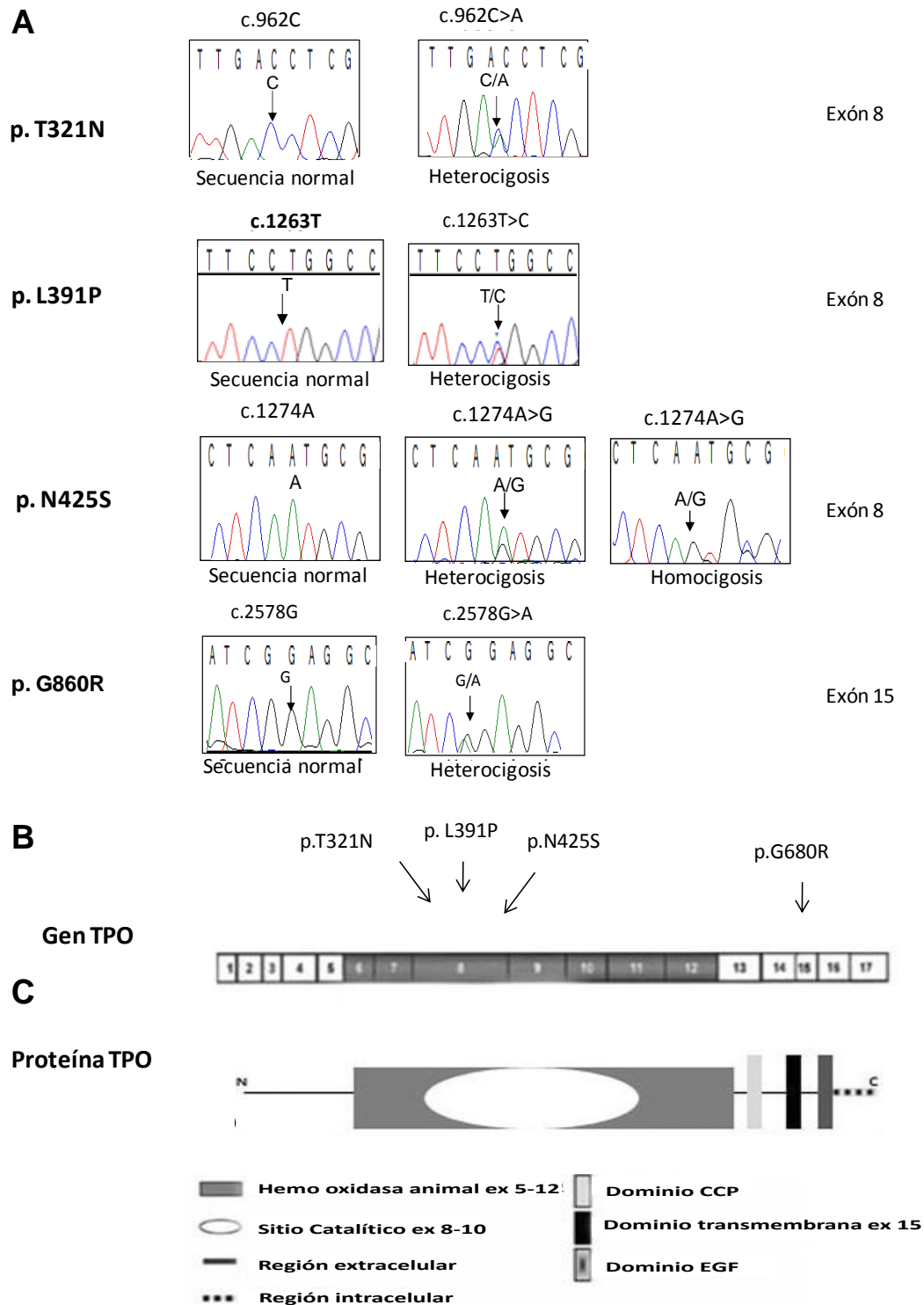


Figura 15. Mutaciones en el gen *TPO* identificadas en 9 familias nicaragüenses. **A**, Cromatogramas de las mutaciones en *TPO*. *p.T321N* en el exón 8 se identificó en las familias 23, 27, 29 y 28 (F28. III. 2,3), *p.L391P* (en el exón 8) en las familias 9, *p.N425S* en el exón 8 en las familias 22, 23, 24, 26, 27, 28, 30 y *p.G860R* (exón 15) en la familia 29. **B**, Organización genómica del gen *TPO* humano mostrando la localización de las mutaciones en los exones 8 y 15. **C**, Esquema funcional de la enzima TPO. Las mutaciones del exón 8 se localizan en el dominio catalítico de la proteína, y la del exón 15 en el dominio transmembrana. Ambos funcionalmente esenciales para la actividad peroxidasa de TPO (Esquema modificado de Deladoey et al., 2008).

Los pacientes F 22, 24 y 26 presentaron grave retraso mental (Fig. 14 pedigrees). El paciente F26 presentaba un fenotipo de retraso mental grave que recuerda al cretinismo clásico, quizás en relación con un diagnóstico muy tardío y tratamiento con levotiroxina completamente irregular. Se dispuso del estudio genético de los padres de estas tres familias y se encontró que portan las mutaciones, como era esperable, en heterocigosis, excepto en la familia 22 no estuvo disponible.

Se encontró que los pacientes de las familias (F23, F27 y dos pacientes de la familia 28 (IV.2.3)) fueron heterocigotos para N425S y una mutación nueva en el exón 8, donde ocurre un cambio de C a A en la posición de nucleótidos c.962C> A dando lugar a un cambio de treonina a Asparagina en el codón 321 (p.T321N). La secuencia normal y la secuencia en heterocigosis se presentan en la Fig. 15. Esta variante según 8 programas de predicción de patogenicidad, es altamente patogénica. Por otro lado, el paciente (F29) es heterocigoto, para una variante en el exón 15 que cambia de A a G en la posición de nucleótido c.2578G> A, y da como resultado un cambio de glicina a arginina en el codón 860 (G860R) y también presenta mutación desconocida en el exón 8 que es la misma mutación que portan los pacientes anteriormente mencionados (p.T321N). La secuencia normal y la mutación en heterocigosis se presentan en la Fig. 15, el pedigrí familiar se presenta en (Fig. 14 F 29). Dos pacientes con heterocigosis compuesta de la F28 (IV.2.3) presentaron retraso mental (Fig.14). Los resultados de la ecografía de los 10 pacientes con mutación en el gen TPO fueron: 4 pacientes con bocio (26, 27, 29, y F28 (IV. 1)), 5 con glándula de tamaño normal (pacientes 22-24 y F28 (IV.2.3)) quizá por inició precoz del tratamiento, sus niveles de Tg sérica fueron entre 550-1800 ng /ml (normal menor de 100 ng/ml 1-24 meses).

Curiosamente, un paciente portador de mutaciones en TPO presentó hipoplasia tiroidea. El paciente F9 resultó con mutación desconocida en heterocigosis, en el exón 8 donde ocurre un cambio de C a T en la posición de nucleótido 1263T> C resultando un cambio en la proteína de una Leucina a Prolina en el codón 391 (L391P). La secuencia normal y la secuencia en heterocigosis se presentan en la Fig. 15, esta variante no se ha descrito, y de acuerdo con predictSNP de 8 programas, en 7 de ellos indican que es patogénica, el pedigrí familiar se presenta (Fig. 14 F 9), este paciente presentó pérdida auditiva. Sólo la madre del paciente fue disponible para el análisis genético, y se encontró que no es portadora de la mutación, lo que, junto al pedigrí con hipotiroidismos en línea paterna, indican una posible herencia dominante paterna de la enfermedad. La abuela y visa-abuela paterna presentan bocio.

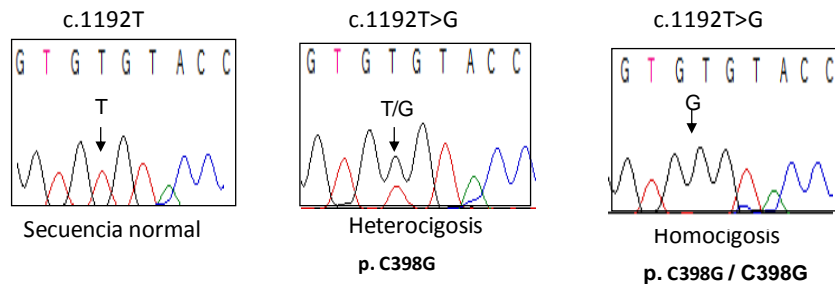
En resumen, los defectos totales o parciales de organificación del yodo por mutaciones en el gen TPO, parecen ser una etiología muy frecuente entre los niños hipotiroideos captados por el programa de cribado Nicaragüense. Algunos de estos niños tienen una incapacidad absoluta de sintetizar hormona tiroidea y dependen exclusivamente del aporte materno transplacentario durante el embarazo, y de la sustitución hormonal con levotiroxina en la vida postnatal. El diagnóstico tardío y la adherencia irregular al tratamiento han llevado en algunos de ellos a un retraso psicomotor y mental profundos, que recuerdan fenotípicamente al cretinismo clásico.

Gen TSHR

El paciente índice de la familia 2, presentó una mutación antes no descrita, en homocigosis en el exón 10 del gen TSHR, resultando de un cambio de guanina (G) por timina (T) en la posición nucleotídica c.1192T>G, lo que provocó un cambio del aminoácido Cisteína en el codón 398 a Glicina (p.C398G). En la Fig. 16 se presenta la secuencia normal (o wild type), secuencia en heterocigosis en sus progenitores y en homocigosis en el paciente (sugiriendo familia consanguínea), respectivamente. Esta mutación se predice como muy patogénica, los programas de predicción in silico de patogenicidad predicen esta variante como altamente patogénica. En predictSNP: de un total de 8 programas utilizados, 6 indican efecto dañino de esta mutación, que es rara poblacionalmente, pues no se ha identificado nunca con anterioridad (menor al 1% de frecuencia del alelo menor). La mutación se codifica por el exón 10 del gen TSHR (Fig. 16B), y se localiza en el dominio extracelular de la proteína, en una región bisagra, funcionalmente muy importante que contiene una caja de cisteínas esenciales para la correcta conformación tridimensional del receptor, y precisamente la Cisteína 398 mutada es una de las tres que conforman esta caja (Fig. 16C). Esta es la base de la propuesta patogenicidad severa de esta mutación sobre el receptor de la TSH, que torna al paciente como totalmente insensible al efecto de la tirotropina (por bialelicidad del cambio).

Este paciente presentó una gran hipoplasia de la glándula tiroides por ecografía, y el hipotiroidismo fue severo (Tabla 11), lo cual es completamente consistente con el hallazgo genético identificado y su estado de homocigosidad. Los padres se prestaron al análisis genético y se confirmó que portan la nueva mutación C398G en heterocigosis y declaran consanguinidad familiar (primos hermanos). La abuela materna y la bisabuela del paciente se reportaron también como hipotiroideas, y un primo del paciente índice presenta retraso mental (Fig. 14, F2).

A



B

Gen *TSHR*



C

Proteína *TSHR*

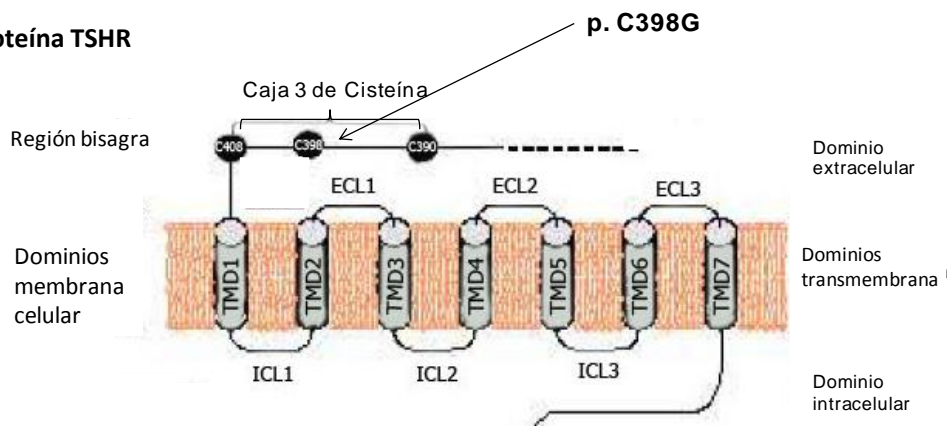


Figura 16. Mutación p.C398G en el gen *TSHR* identificada en la familia 2. **A**, Cromatogramas de la mutación en el *TSHR*. **B**, Organización genómica del gen *TSHR* humano mostrando la localización de la mutación en el exón 10 (C398G). **C**, El dominio extracelular del *TSHR* contiene una región bisagra, que incluye abundantes residuos de cisteína, altamente conservados en todos los receptores homólogos de otras hormonas glucoproteicas (GPCRs), donde se localiza la Cisteína 398 mutada (*Esquema modificado de Persani L, et al., 2010*).

Gen *DUOX2*

En trece pacientes con glándula in situ de tamaño normal o agrandado, se realizó estudio genético para el gen *DUOX*, dada la alta frecuencia de mutaciones en este gen en el hipotiroidismo congénito (Moreno et al., 2002). De éstos pacientes, 3 tenían glándulas de tamaño normal, 7 Tg por encima del rango normal y 3 pacientes presentaban hipertirotropinemia aislada. No se encontró mutación en ninguno de estos pacientes.

Como se ha dicho, esto es llamativo pues se postula que mutaciones de *DUOX2* puedan ser de los defectos genéticos más frecuentes en dishormonogénesis humana (Moreno et al., 2002). Sin embargo, la presentación de casos con mutación en heterocigosis, o heterocigosis compuesta puede presentarse como un hipotiroidismo leve o moderado que incluso en países que utilizan sangre de talón a las 72 h para el cribado, se escapan a la detección neonatal o resultan en niveles borderline de TSH neonatal que es necesario repetir (segunda muestra de talón) y que pensamos que difícilmente puedan ser captados por el programa de cribado Nicaragüense.

Como se mencionó en el Estudio I, el cribado de HC Nicaragüense por TSH de cordón parece captar los hipotiroidismos más graves y no detecta los casos de presentación inicial moderados a leves: Esto puede ser una de las causas plausibles de la falta de identificación de mutaciones de *DUOX2* en nuestra cohorte de pacientes hipotiroideos. Sin embargo, otra podría ser que, aunque identificados al cribado como positivos, los casos más leves bioquímicamente (20-40 mU/l TSH) son precisamente aquellos con una tasa más baja de retestado (mencionado en el estudio I, Fig. 12). Por último, la transitoriedad del hipotiroidismo por defectos monoalélicos de *DUOX2*, pueda estar jugando un papel, cuando niños con valores séricos normales (o borderline) al retestaje, puedan expresar posteriormente un hipotiroidismo bioquímico más florido.

La genética podría confirmar la mayor o menor capacidad de identificación de este tipo de programas en cuanto a la gravedad de fenotipos detectables con esta estrategia.

Gen *PAX8*

El estudio genético del gen *PAX8* se realizó en 27 (68%) de los pacientes caracterizados por ecografía con hipoplasia de la glándula tiroides y pacientes que no tenían Tg ni ultrasonidos. Tampoco se evidenció ninguna variante en este gen.

3. Relación de la Concentración de Tg T4 y TSH sérica en los pacientes y mutaciones encontradas en el gen *TPO*.

Hemos investigado si la genética puede ayudar a corroborar o aportar información adicional para confirmar la severidad de los casos de hipotiroidismo identificados en el cribado Nicaragüense.

Dentro de las dishormonogénesis que no se deben a mutaciones en el gen de la Tiroglobulina (TG), los niveles de Tg sérica constituyen un importante dato de la severidad del hipotiroidismo

que se estudia. En la Fig. 17 Se observa que 6 de 7 pacientes con mutaciones en TPO (puntos color rojo), fueron pacientes con dishormonogenesis que presentaron valores de Tg extremadamente elevados, por encima de 500 ng/ml (normal: menor de 100 ng/ml). Existe una excepción, el paciente 29 que aparece en el gráfico con una Tg “superior a 100 “ng/ml, donde no se llevaron a cabo diluciones y no conocemos con certeza el valor de Tg. Es destacable que tan solo en 1 caso, la Tg sérica fue normal.

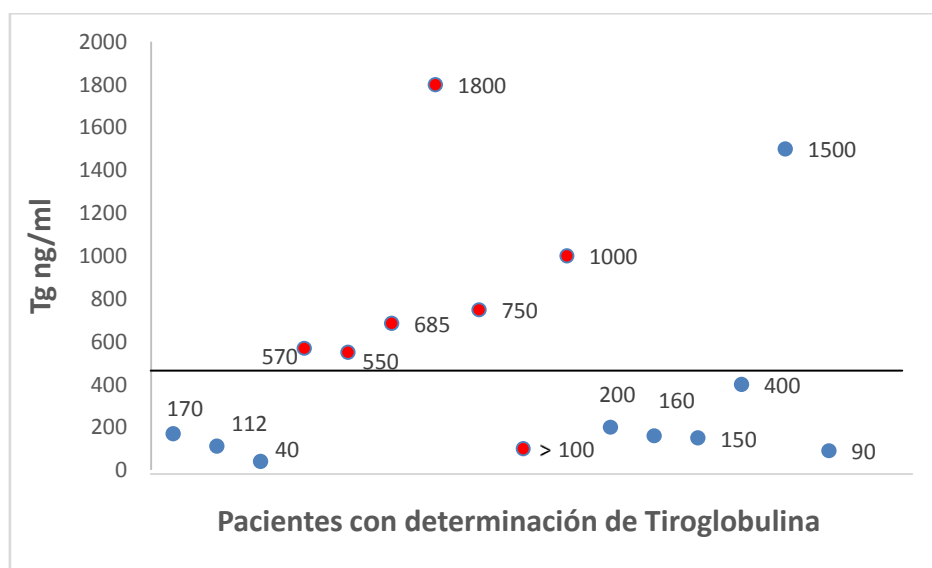


Figura 17. Concentración de Tg (ng/ml) de los pacientes con HC, destacando aquellos con mutaciones en TPO (puntos color rojo).

En el siguiente gráfico (Fig. 18) se muestra que la mayoría de los pacientes del estudio obtuvieron valores de T4 en el límite indetectable (muy por debajo de 6.9 µg/dl), en concordancia con la extrema severidad del hipotiroidismo que padecen. En el gráfico se observa que los pacientes con mutaciones de TPO, todos presentan valores de T4 indetectables.

En el siguiente gráfico (Fig. 19) se muestra que los pacientes con mutaciones en TPO, presentaron concentraciones de TSH por encima de 300 mU/l, dos pacientes con TSH > 100 mU/l, en cambio el paciente con mutación del TSHR presentó valor más moderado de TSH con 47 mU/l. Podemos decir que los pacientes con mutaciones en TPO presentan de entre los valores más elevados de TSH (desde >100 hasta 2275 mU/l). (Fig. 19), excepto una paciente con mutación en heterozigosis (monoalelica) que tenía una concentración >25 mU/l.

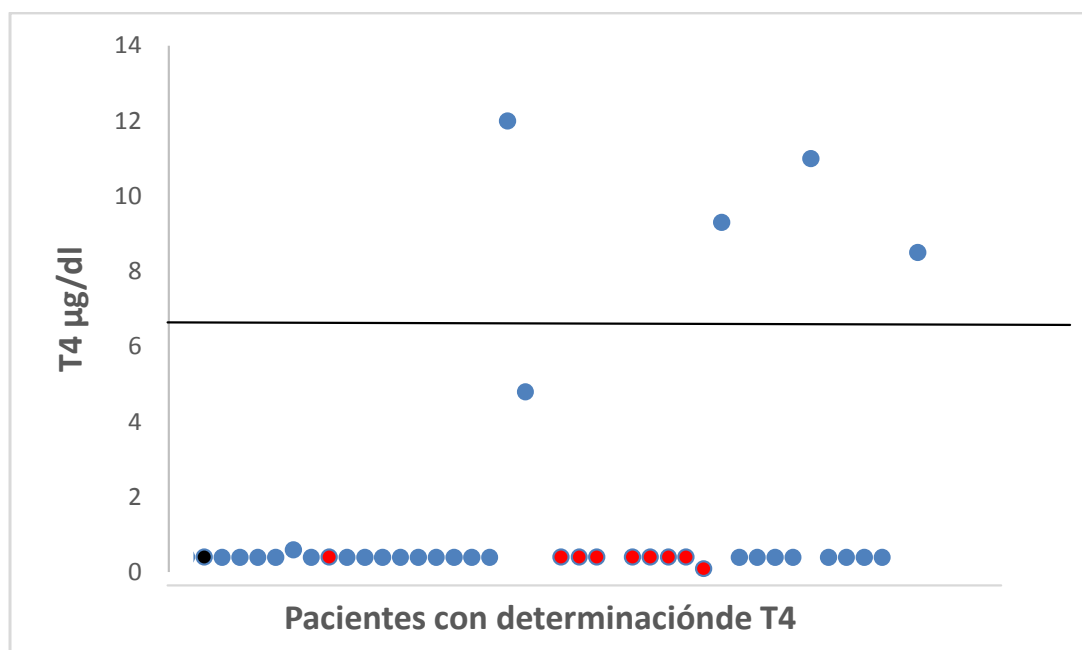


Figura 18. Se muestra que las mutaciones encontradas en TPO (puntos color rojo), TSHR (punto color negro), los valores de T4 fueron en el límite indetectable. Rango normal de referencia para T4, 6.9 µg/dl (línea continua del gráfico).

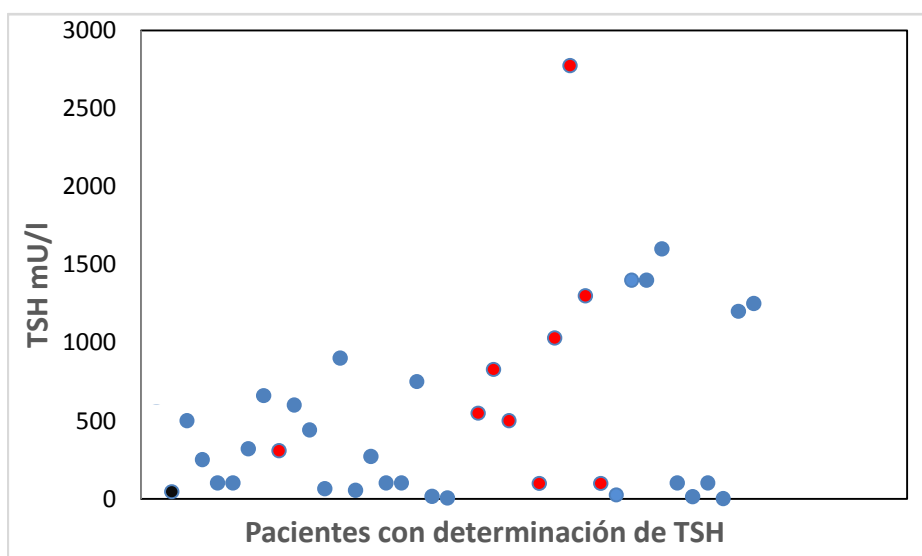


Figura 19. Se muestra que las mutaciones encontradas en TPO presentan los valores de TSH más altos, TPO (puntos color rojo), TSHR (punto color negro).

En la tabla 12 se presentan las características clínicas, bioquímicas, ecográficas y genéticas de los pacientes en los que se han encontrado mutaciones, se observa que 9 (64%) de los 12 pacientes con mutaciones, fueron diagnosticados con más de 1 mes de vida, por lo que éstos pacientes presentan características clínicas severas. Sin embargo el paciente 24 fue diagnosticado a los 15 días de vida y presentó retardo mental. Esto probablemente es debido

a que los familiares no cumplen con el tratamiento de manera regular. De estos resultados se observa una correlación entre las características fenotípicas y las genotípicas de los pacientes, en las que se muestra la gravedad del HC al encontrarse mutaciones bialélicas en la mayoría de los pacientes (79%).

P		cbTSH mUI/L	sTSH mUI/L	sT4 µg/dl	sTg ng/ml	Edad diagnóstico	Edad ecografía	Glándula tiroides	Características clínicas	Resultados genético
2	♂	63	>47	0.4		0.1	5	Hipoplasia		TSHR C398G/C398G
9	♀	34	308	0.4		10 d	9	Hipoplasia	Pérdida auditiva	TPO L391P
21	♀	-	-	-		1	13	Normal	Alteraciones neurológicas	TPO N425S/T321N
22	♀	88	550	0.4		0.4	3	Normal	Alteraciones neurológicas	TPO N425S/N425S
23	♀	112	830	0.4	570	0.4	0.5	Normal	Hipotonía	TPO N425S/T321N
24	♀	166	500	0.4	550	15 d	7	Normal	Deficiencia mental, ataxia	TPO N425S/N425S
25	♀	-	-	-		5	14	Normal	Alteraciones neurológicas	TPO N425S/T321
26	♂	62	>100	0.4	685	0.3	5.6	Bocio	Deficiencia mental, baja estatura	TPO N425S/N425S
27	♂	102	1030	0.4	1800	0.2	1.1	Bocio		TPO N425S/T321N
28	♀	-	2775	0.4	750	0.2	1	Bocio		TPO N425S/N425S
29	♂	100	1300	0.4	>100	22 d	5	Bocio		TPO G860R/T321N
30	♂	100	>100	0.4	1000	0.1	-			TPO N425S/N425S
n=12		9	10	10	7		11	11		12

Tabla 12. Características clínicas, bioquímicas, ecográficas y genéticas de los 14 pacientes con mutaciones en los genes (TPO, TSHR).

Estudio III. Evaluación del estado nutricional del yodo en mujeres embarazadas, recién nacidos y niños en Nicaragua mediante medición de yodo en orina, tiroglobulina y tirotropina en sangre de cordón umbilical.

El objetivo de este estudio fue obtener un diagnóstico certero, histórico y actual sobre el estado nutricional de yodo en Nicaragua. Para abordar este objetivo utilizamos diversas técnicas bioquímicas (yodurias, y contenido de yodo de las sales disponibles, TSH y Tg) y calculamos parámetros internacionalmente aceptados para determinar la yodo-deficiencia o yodosuficiencia en una población.

1. Concentración de yodo en orina de escolares y gestantes.

En la provincia de León, se recogieron orinas casuales de la mañana en 281 niños escolares con edades entre 3- 7 años, en un total de 2 centros escolares diferentes, en el año 2015. Así mismo, se colectaron 419 orinas de embarazadas previamente al momento del parto, que tuvo lugar en el hospital central de la ciudad de León.

La mediana de yodo en orina de los niños escolares fue de 33 µg/l, mientras que en mujeres embarazadas fue de casi el doble (60 µg/l). Las Figuras 20 y 21 muestran los niveles de yodurias encontrado en los niños y mujeres embarazadas respectivamente, clasificados según los criterios epidemiológicos de la OMS para la evaluación de la nutrición de yodo, siguiendo las medianas de concentración de yodo urinario establecidas para diferentes grupos de población (WHO 2007). Tomando en cuenta estos criterios, encontramos que un 65,8% de los niños tienen una ingesta insuficiente de yodo (yodurias <100 µg/l), el 18,9% una ingesta adecuada (100-199 µg/l) y el 15,3% está por encima de lo adecuado (Fig. 20). De acuerdo con los criterios establecidos para las mujeres embarazadas, el 71,7% de ellas tiene una ingesta insuficiente de yodo (<150 µg/l) solamente en el 10% es adecuada y el 18% está por encima de la requerida o excesiva. Estos datos implican una amplia yodoinsuficiencia en estas dos poblaciones de riesgo estudiadas. (Fig 21)

2. Concentración de TSH en eluato de sangre de cordón umbilical de los neonatos sometidos a cribado neonatal del HC en el periodo 2005-2015.

Los valores de TSH en la sangre del cordón umbilical fueron superiores a 5 mU/l en el 8,7% de los recién nacidos como media de todos los años (Fig. 22), lo que indica, según los criterios de la OMS una deficiencia de yodo leve. Cuando se desglosan los datos por año (Figura 22) se observa una alta variación en este porcentaje, que oscila entre 18% en 2008 y 2% en 2014, lo que sugiere una tendencia a la mejoría de este parámetro en los últimos años.

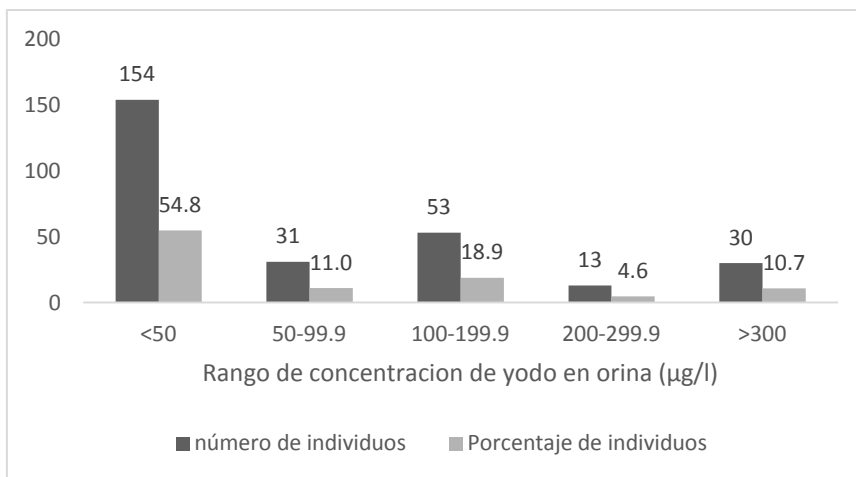


Figura 20 Distribución de concentración de yodo en orina en escolares del distrito de León.

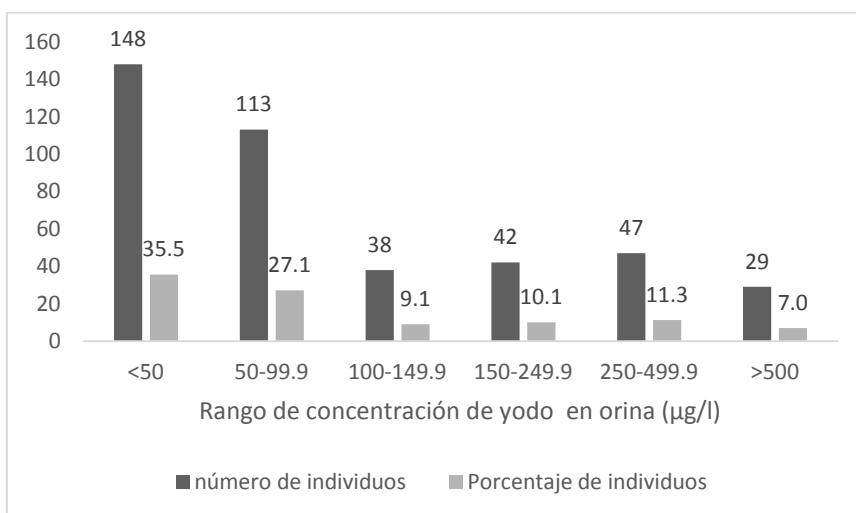


Figura 21 Distribución de concentración de yodo en orina en gestantes del distrito de León.

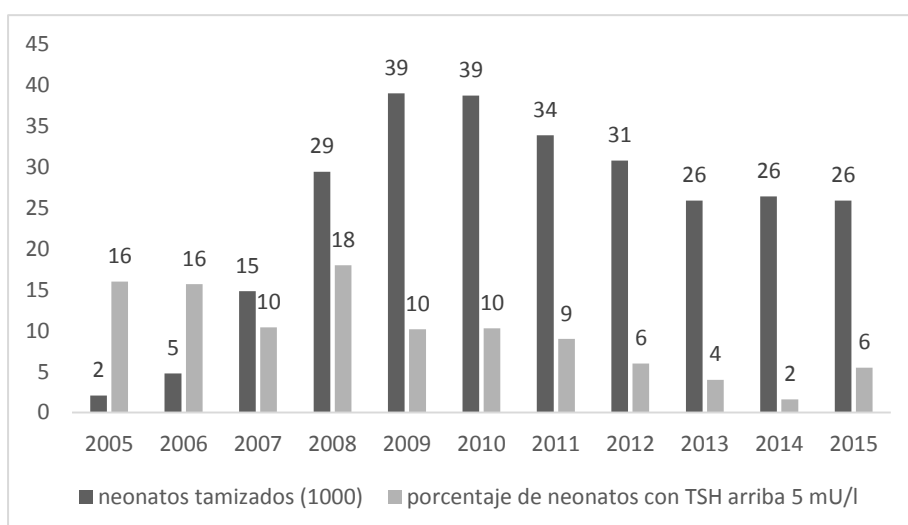


Figura 22. Porcentaje de TSH > 5 mU/L en sangre de cordón de neonatos del cribado neonatal para HC en Nicaragua. Años de estudio y muestras analizadas por año.

3. Concentración de TSH y Tg en el suero del cordón de 201 neonatos del tamizaje neonatal durante el año 2015.

Recientemente se han realizado estudio para la determinación de la Tg sérica en sangre de cordón umbilical y puede ser un indicador informativo de deficiencia de yodo poblacional (Elton et al., 2001; Kurtoglu et al., 2004; Azizi et al., 2011), pero aún son pocos los estudio que se han realizado que corroboren su eficacia sobre la correlación de éste parámetro con las yodurias.

Los valores de TSH en 201 recién nacidos tuvieron una media de 6,4 mU/l, 31 de los valores (15,4%) fueron superiores a 10 mU/l (Tabla 13). La tiroglobulina en el mismo grupo de recién nacidos y muestras tenía una media de 95,7 ng/ml, 145 valores (72%) estaban por encima del valor superior de referencia de 54 ng / ml (Tabla 13). Estos datos revelan que la función tiroidea de la población de estudio refleja insuficiencia de yodo y por la tanto éstos neonatos están en riesgo de sufrir enfermedad tiroidea.

	TSH	Tg
Números de individuos	201	201
Media \pm DS	6.4 mU/l \pm 0.3	95.7 ng/ml \pm 4.1
Rango	1-24 mU/l	12-312 ng/ml
TSH>10 mU/l	31 (15%)	
Tg>54 ng/ml		145 (72%)

Tabla 13: Resultados estadísticos de TSH y Tg del suero del cordón umbilical de los neonatos. (rango de referencia 2-54 ng/ml).

4. Relación entre las yodurias de las madres, y la TSH y Tg de sus neonatos.

Existe una correlación significativamente negativa $p=0.048$ entre la concentración de yodo urinario de las madres y la TSH neonatal (Figura 23) y en igual sentido, una tendencia fuerte de correlación negativa (que bordea el significado estadístico) entre la yoduria materna y la Tg de los neonatos (Figura 24). Ello podría estar indicando que ambas determinaciones en cordón umbilical podrían tener valor para estimar la deficiencia de yodo poblacional como determinaciones quizás menos variables que la propia de la yoduria (muy dependiente de la ingesta reciente de productos yodados) que hasta ahora es el test standard establecidos para llevar a cabo estos estudios. Por lo que estos parámetros podrían ser complementarios.

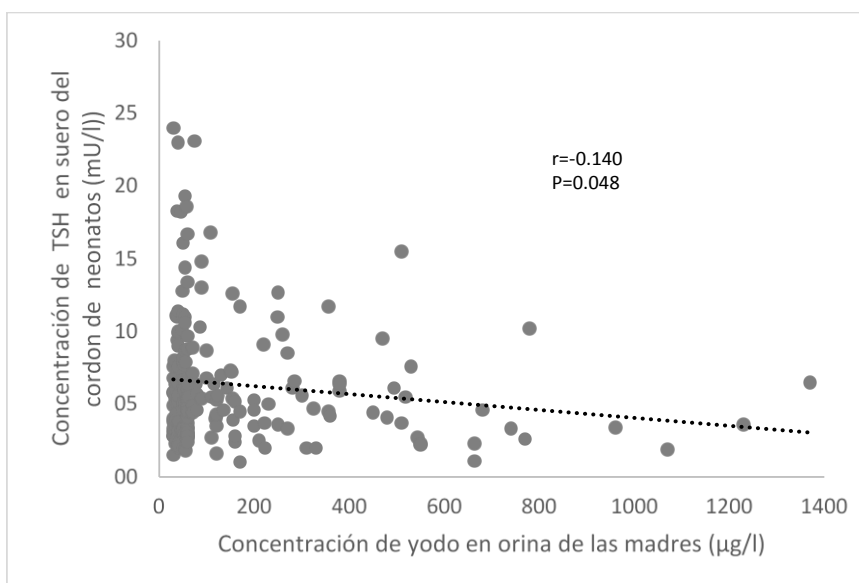


Figura 23. Correlación ($p=0.048$), $r=-0.140$ entre la concentración de yodo en orina de 201 mujeres previo al parto y TSH en suero del cordón de sus neonatos.

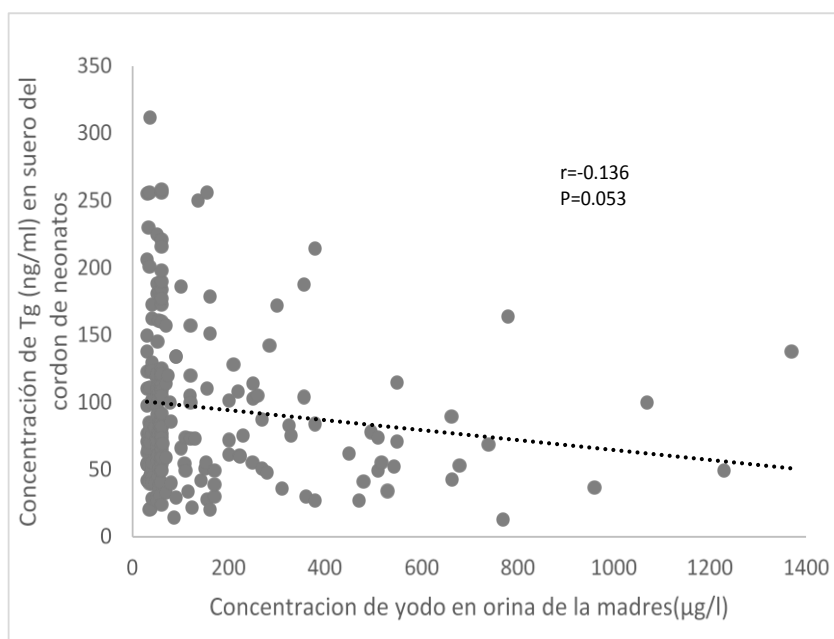


Figura 24. Correlación ($p=0.053$) ($r=-0.136$) entre la concentración de yodo en orina de las madres previo al parto y concentración de Tg en suero del cordón de sus neonatos.

5. Concentración de yodo en sal de consumo

Este es un estudio comparativo, histórico y actual, de la yodación de las sales disponibles comercialmente en Nicaragua, entre el año 2005 y 2015, periodos de evaluación de todo

nuestro estudio global. De las once muestras de sal para consumo humano globalmente analizadas (Fig 25), siete tuvieron una concentración de yodo por debajo del mínimo establecido legalmente en Nicaragua (33 mg/kg). De estas siete, cuatro fueron recogidas y analizadas en el año 2005 (A- D) y tres en el año 2015 (G, H e I). Por otra parte, ninguna muestra llegó a superar el nivel legal máximo de yodo permitido en el país (60 mg/kg). De acuerdo a criterios internacionales de la OMS, las muestras de sal yodada de consumo deben tener concentraciones de entre 20-40 mg de yodo por kg de sal). Por tanto, 5 muestras de sal (45%) presentaron concentraciones por debajo de lo recomendado internacionalmente (B, D, G, H e I). En la comparativa histórica, este porcentaje parece no haber mejorado en los últimos 10 años, siendo aproximadamente la mitad de las sales disponibles las que tienen yodación de la sal incorrecta. No existen datos comerciales sobre el consumo relativo de unas frente a las otras, pero era muy destacables las diferencias de precio (y país de origen: importadas vs nacionales) al alza de las sales correctamente yodadas.

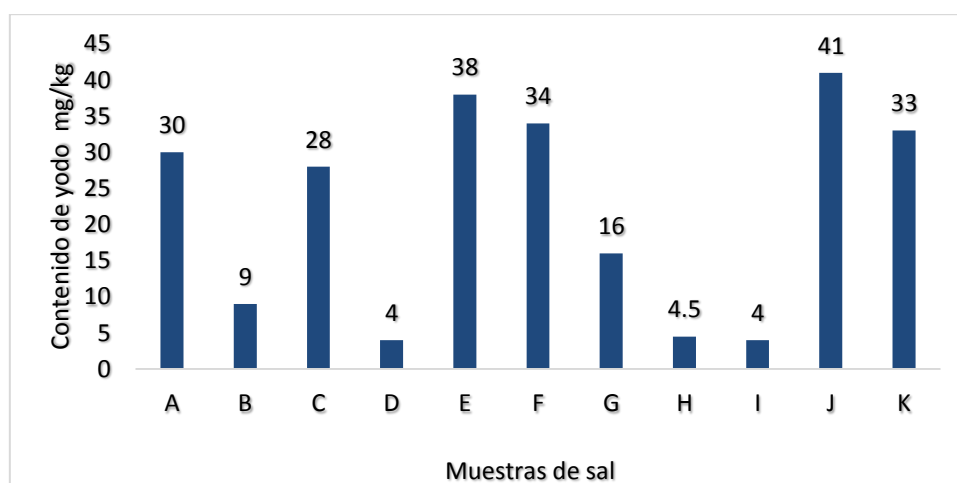


Figura 25. Concentración de yodo en diferentes muestras de sal de consumo obtenidas de supermercados locales en el año 2005 (A –E) y año 2015 (F-K).

V. Discusión

Estudio I: Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito en Nicaragua: evaluación de un programa con 10 años de experiencia (2005-2015)

Nicaragua es un país en desarrollo con una población de 6 millones de habitantes. Ocupa el penúltimo puesto de América y del mundo occidental en ingreso bruto per cápita (Therrel et al., 2015).

En 2005 se inició en este país un programa de cribado para HC, dentro del marco de la cooperación con la Universidad de Alcalá en España. En once años el programa se expandió de 1 a 10 provincias del país (de un total de 17). El número de neonatos examinados aumentó aproximadamente 15 veces en este período. El programa alcanzó una cobertura media del 71% de los recién nacidos en las provincias participantes, evolucionando desde el 55% inicial hasta un máximo del 87%. Esto es muy significativo para no ser un programa de cribado gubernamental y que, por tanto, no se beneficia del apoyo logístico y económico del sistema nacional de salud. En el entorno de países Latinoamericanos, hasta ahora sólo los países con programas de cribado de más de 20 años de experiencia (Cuba, Costa Rica, Uruguay, Chile) lograron alcanzar tasas de cobertura por encima del 95% (Therrell et al., 2015).

Se detectaron 153 recién nacidos como sospechosos de HC (total de casos positivos) en estos 11 años. De éstos, se reexaminaron 96 (tasa de re-evaluación o de confirmación del 63%) y 80 se diagnosticaron de padecer HC, mientras que 16 fueron eutoriodeos. El Valor predictivo positivo (VPP) del programa (% de los verdaderos positivos de entre todos los reexaminados) fue del 83%, comparable a los VPP de los programas de HC de México (75%, Vela et al., 2004), Paraguay (87%, Ascurra et al., 2011; Ascurra et al., 2007) o Argentina (88 %, González et al., 2007). La tasa de Falsos Positivos (FP), calculada como el porcentaje de niños eutiroideos de entre todos los bebés reexaminados, fue del 16,7%, lo cual es muy aceptable en comparación con países del entorno. Se planteó la hipótesis de que esta eficiente tasa de FP pudiera estar influida por la relativamente baja tasa de reevaluación lograda por nuestro programa (63%). Por lo tanto, se analizó si había algún sesgo debido a que los niños más graves (supuestamente con TSHs más altas en la primera evaluación con sangre de cordón umbilical), pudieran ser los que fuesen llevados por sus padres con mayor seguridad al retestaje sérico tras la llamada del laboratorio. De hecho, demostramos que la media de TSH neonatal de los niños que no acudieron a la llamada para ser reexaminados fue significativamente menor que la TSH de los niños reevaluados. Este hallazgo sugiere que los niños que están afectados más levemente no son llevados a la reevaluación, probablemente por una percepción de “ausencia de

enfermedad” por parte de sus familiares, al no observar ningún signo alarmante, y considerando la situación económica y el coste de un desplazamiento desde zonas rurales remotas, por ejemplo, a la ciudad de León. Teniendo en cuenta este sesgo, pensamos que la tasa de 16,7% de FP pudiera haber sido mayor si se hubieran retestado el 100% de los niños positivos al cribado (González et al., 2007; Vela et al., 2004).

La incidencia de HC en Nicaragua, incluyendo las hipertiropinemias congénitas, se estima de 1 en 3399 recién nacidos, estando dentro del rango de incidencias reportadas en países Latinoamericanos, ya sea mediante análisis de sangre de talón (de 1: 1501 en Paraguay a 1: 3670 en Brasil), o de sangre del cordón umbilical (1: 2064 en Uruguay a 1: 3616 en Cuba)(Queiruga et al., 2011 Borrajo, 2007). La amplia variación de las incidencias en la región, como en el resto del mundo, puede verse influida por cuestiones técnicas, pero también por antecedentes étnicos (genéticos), así como por condiciones ambientales como la deficiencia de yodo (Ford & LaFranchi, 2014; LaFranchi, 2014; García- G et al., 2012). En cualquier caso, la incidencia de HC obtenida para Nicaragua se encuentra en el rango bajo de las incidencias reportadas en Latinoamérica. Además, observamos que la mayoría de los bebés identificados por el programa eran hipotiroideos graves según sus niveles de T4 séricos a la confirmación, de acuerdo con la categorización de la gravedad del HC en las guía consenso de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE) (Léger et al., 2014). Tanto la baja incidencia de HC obtenida, como la alta proporción de bebés gravemente hipotiroideos identificados por el programa sugirieron la hipótesis de que 20 mU/l de TSH podría ser un punto de corte relativamente alto para la detección de bebés con hipotiroidismo moderado.

Sin embargo, nuestro ensayo de 4 años usando el punto de corte de TSH en 10 mU/l no mejoró la tasa de detección de pacientes (ya con HC, ya con HT) mientras que empeoró el valor predictivo positivo del programa desde 83% a 62,5%. Este hallazgo se interpretó como que el punto de corte de 20 mU/l de TSH es el umbral más eficaz posible si se sigue la estrategia nicaragüense de cribado de HC, utilizando sangre de cordón umbilical. De hecho, este umbral en el programa de cribado con sangre del cordón umbilical es el más ampliamente utilizado en países donde utilizan este tipo de muestra (Abduljabbar et al., 2009; Marrero et al., 2000; Manglik et al., 2005; Kumar et al., 2005). Por tanto, la falta de eficacia para detectar casos moderados de HC parece depender directamente de la estrategia escogida, y no de la calidad del desempeño del programa en este sentido. Pensamos que la captación de hipotiroidismos más moderados probablemente no sería posible si no es a través de un cambio de estrategia (determinación de sangre de talón de bebés a las 72 h de vida) que no parece viable en las condiciones socioeconómicas y organización sanitaria del país.

El presente estudio apunta una posible limitación de las estrategias basadas en sangre del cordón umbilical en comparación con las que usan sangre del talón (72 h) en lo referente a detección de casos moderados y leves de hipotiroidismo congénito, que han conseguido programas de detección por talón disminuyendo los *cutoffs* de 20 a 10-12 mU/l de TSH (Ford & LaFranchi., 2014; Corbetta et al., 2009; Botler et al., 2012).

Finalmente, el programa de cribado nicaragüense adolece de dificultades obvias en su desarrollo y enfrenta desafíos importantes para el futuro. La tasa media de rechazo de muestras en el programa nicaragüense sigue siendo alta (5,9%), lo que refleja la necesidad de capacitación regular del personal involucrado en la recolección de muestras. No obstante, este desafío representa una manera sencilla de aumentar la tasa de cobertura *real* del programa en el futuro. La tasa de re-examinación (confirmación) de los bebés positivos en el cribado también es baja, aunque similar a la encontrada en países con estatus socioeconómico precario de la población, infraestructuras sanitarias y de transporte deficientes y alta tasa de población viviendo en áreas rurales remotas (43.1%). Ello explica también el dilatado lapso de tiempo que transcurre actualmente entre la confirmación e inicio del tratamiento, en comparación por los conseguidos por México y Cuba (Vela et al., 2004; Paredes et al., 2003).

Estudio II. Clasificación etiológica y caracterización molecular del hipotiroidismo congénito de niños diagnosticados en Nicaragua en 2005-2015.

El diagnóstico etiológico de los neonatos con HC en Nicaragua es insuficiente, pues no se dispone de todas las determinaciones y equipamientos necesarios para su clasificación en las instalaciones hospitalarias. El estudio fenotipo de los niños con HC se basó en la gravedad de las pruebas bioquímicas de la función tiroidea según criterios ESPE, en la ecografía tiroidea, realizada de forma muy variable en cuanto a la edad de los pacientes y en estudio piloto (donde los radiólogos empezaron a adquirir experiencia con las mediciones de la glándula) y, en casos determinados, por determinación de la tiroglobulina sérica. El 87% de los pacientes presentó HC grave. Probablemente esto se debe a que el (71%) de los pacientes fue diagnosticado con más de un mes de vida. El 69% de los pacientes la ecografía presentó alteraciones del tamaño tiroideo (hipoplasia o bocio) y una gran mayoría de todos los pacientes con glándula *in situ* no-hipoplásica presentaban elevaciones muy marcadas de tiroglobulina sérica (Tabla 11).

Esta aproximación etiológica reveló que aproximadamente el 45% de los pacientes estudiados presentaba características de dishormonogénesis y el 55% de disembrigénesis o disgenesia tiroidea, exclusivamente del tipo hipoplasia, sin aparentes ectopias ni agenesias completas. Comparando éstos resultados con los de otros países, vemos que existen diferencias. El porcentaje clásico de dishormonogénesis mencionado en la mayoría de los países ronda el 10-20%, (Grasberger et al., 2010; LaFranchi, 2011a; Park & Chatterjee, 2005; Rodrigues et al., 2005; Targovnik et al., 2014). Sin embargo, un estudio realizado en Eslovenia reporta el 34% de los pacientes con HC dishormonogénico (Avbelj et al., 2007) y en Brasil alcanza el 28% de los pacientes (Ramos et al., 2009). Este elevadísimo porcentaje de pacientes con glándula *in situ* es sin embargo también el reportado recientemente por Corbetta et al., 2009 en Italia, siendo éste del 68% y aclarando los autores que este porcentaje ha de incluir necesariamente las dishormonogénesis leves que ahora se diagnostican más en países con estrategias de sangre de talón y que en muchas ocasiones se expresan clínicamente como hipertirotropinemias neonatales y encontraron un 32% con disgenesia tiroidea (Corbetta et al., 2009). Podemos concluir que nuestro porcentaje de dishormonogénesis queda dentro de valores hallados en otros países usando estrategias de cribado variadas. Sin embargo, hay que destacar que, siendo los HC detectados en Nicaragua graves (pocas hipertirotropinemias aisladas detectadas) se esperaría que las dishormonogénesis supusieran un porcentaje algo inferior al hallado (55%). A este respecto, sin embargo, mencionar que, a diferencia de las disgenesias tiroideas (con un patrón de herencia mucho más dominante, no-mendeliano y/o estocástico, Deladoey et al.,

2007), la mayoría de dishomonogénesis son de herencia recesiva, y hemos evidenciado un sorprendentemente alto porcentaje de consanguinidad parental en nuestro estudio genético (Figura 14 pedigrees).

La mayoría de estudios indican que las causas más frecuentes por defecto en el desarrollo del tiroides, son la ectopia y la hipoplasia tiroidea, ésta con menos frecuencia (LaFranchi, 2011; Ramos et al., 2009; Al-Jurayyan et al., 1997; Fisher et al., 1979; Panoutsopoulos et al., 2001). Comparando con los estudios realizados en Latinoamérica, en México encontraron 93% de disembrigénesis (con 57% de ectopias, 36% agenesia) y sólo 7% con dishormonogénesis (Castilla, 2015), en Paraguay un 100% de disgenesias con casi la mitad de agenesias (47 %) (Ascurra et al, 2011), Brasil encontraron 72% de disgenesia (con 37% ectopias, 24% de agenesia) y 28% con dishormonogenesis (Ramos et al., 2009. Nuestros resultados en cuanto a disgenesias tiroideas se separan de lo reportado en la literatura, probablemente por influencia de las características geográficas, genéticas y ambientales del país, pero también de la inexperiencia local para los estudios ecográficos de tiroides infantil (destacando la ausencia completa de ectopias, por ejemplo sublinguales, que requieren pericia para identificarlas).

En el estudio etiológico por genética, de 41 pacientes investigados, en el 29% se encontraron mutaciones, lo que comparado con la mayoría de trabajos, es un porcentaje considerablemente alto (Montanelli & Tonacchera, 2010), sin embargo en Corea encontraron un 35% de anomalías genéticas en la población hipotiroidea (Park et al., 2016).

De las mutaciones encontradas, el 26.8% corresponde a defectos en la organificación del yodo por mutaciones en el gen TPO, un porcentaje más alto en comparación con lo reportado en la literatura (Ris-Stalpers & Bikker, 2010) y un 2,4% (1 paciente) a defectos homocigoto en el TSHR.

La mayoría de los casos de HC con disgenesia tiroidea (DT) son esporádicos. Sin embargo, hay evidencias de factores genéticos hereditarios involucrados en esta patogénesis (Montanelli & Tonacchera, 2010), considerándose que en el 10 % tiene un carácter familiar, siendo las mutaciones autosómicas recesivas del TSHR su principal causa (Cangül et al., 2015). En nuestro estudio, se encontró una mutación del TSHR en un paciente, lo que representa el 3,7% de los 27 pacientes estudiados para este gen. La mutación en homocigosis C398G en el exón 10 del TSHR encontrada en el paciente no se ha descrito en otros estudios, y según predictSNP es patogénica. La segregación de ambos padres indicó que llevan la mutación en heterocigosis, consistente con un patrón de herencia autosómico recesivo como se espera en familias consanguíneas (Narumi & Hasegawa, 2015). La pérdida de función del TSHR debido a la

mutación causa glándula hipoplásica de severidad grave pero variable (Targovnik, 2011; Rapoport et al., 1998). En este paciente, hay una relación consistente entre genotipo y fenotipo: hipotiroidismo marcado y glándula ecográficamente pequeña.

La mutación en el receptor de TSH (C398G) encontrada en el paciente, se localiza en un dominio interesante de la proteína: en su dominio extracelular (ECD), dentro la región denominada “bisagra”. Esta región es el sitio de unión entre una dominio repetitivo rico en leucinas (LRRD) y el primer dominio transmembrana (TMD) (Fig. 16). Esta región bisagra es rica en cisteínas y se cree que las cisteínas de esta región bisagra forman enlaces disulfuro intramoleculares, lo que contribuye a la estructura tridimensional del ectodominio (Persani et al., 2010; Rapoport et al., 1998). Así mismo, estudios recientes demuestran que la región bisagra desempeña no sólo un papel estructural, sino también funcional, en la activación de todos los receptores de hormonas glucoproteicas (GPHRs, glycoprotein hormone receptors) (Persani et al., 2010; Kleinau et al., 2017). Se sabe que la región entre el LRRD y el TMH1 es importante para la unión de hormonas, pero también para la transducción de señales (Kleinau et al., 2017). En cuanto a la patogenicidad de C398G, hay que tener en cuenta que se han reportado mutaciones en esta región en vecindad cercana a la mutación encontrada en nuestro paciente (Narumi et al., 2009; Nicoletti et al., 2009; Persani et al., 2010), pero, sobre todo que es precisamente una cisteína la que muta y desaparece de un lugar altamente conservado entre TSHR en distintas especies.

En 11 de los 16 pacientes clasificados como con HC por dishormonogénesis (68,75%) se encontraron mutaciones en el gen de la TPO. Uno de los mecanismos más comunes de dishormonogénesis es el defecto en la enzima tiroperoxidasa (TPO) (Eskandari et al., 1997; Stalper et al., 2010, Bas et al., 2014) lo que es consistente con los resultados de nuestro estudio. La frecuencia de mutaciones en TPO encontrada en los pacientes Nicaragüenses, es más alta que la que se encontró en Eslovenia (45%) en una cohorte de 43 pacientes (Avbelj et al., 2007) y en una cohorte de 55 pacientes portugueses, que fue de 24% (Rodrigues et al., 2005). Todos los pacientes con dishormonogénesis que tuvieron mutaciones en el gen de TPO se caracterizaron por presentar un HC grave. El fenotipo hormonal se vio gravemente afectado con valores de T4 menores de 40 nmol /l, glándula de tamaño normal en 5 pacientes y 4 con bocio. Estos pacientes presentaron valores de Tg muy elevados, superiores a 500 ng/ml, comparables con los encontrados en otros estudios (Maciel et al., 2013; Rodrigues et al., 2005) por lo que se puede decir que también existe correlación entre el fenotipo y el genotipo de este grupo de pacientes.

La mayoría de los casos de HC asociados con alteraciones en el gen de TPO presentan mutaciones en homocigosis o en heterocigosis compuesta (Fu et al., 2016; Lee et al., 2015). En nuestro estudio se encontraron 10 pacientes con mutaciones bialélicas (5 en homocigosis, 5 con en heterocigosis compuesta) y 1 con mutación monoalélica. En este último caso, dada la similitud en la gravedad hormonal y clínica del paciente con el resto, se sospecha la existencia de algún otro defecto que se escapa al genotipado clásico por PCR y secuenciación Sanger que cubre regiones regulatorias localizadas upstream 5' (promotor) o 3' (región no traducida del mRNA)- o "aguas abajo" (*downstream*) del propio gen *TPO*. La hipoplasia ecográfica podría ser atribuible a un tratamiento continuado y correcto o bien a defectos técnicos en la realización de la ecografía.

De los pacientes con mutaciones de TPO, 5 mostraron retraso mental. Dos de ellos (F22.II.1 y F26.III.1, Tabla 11) comenzaron tratamiento después de 3 meses de edad y uno de ellos (F24.IV.2, tabla 11), aunque inició el tratamiento antes de un mes de edad, no lo recibió de forma regular. Dos pacientes (F21 y 25, tabla 11) con mutaciones en heterocigosis compuesta iniciaron el tratamiento entre los 1-5 años de edad, por lo que las circunstancias individuales explican el retardo mental de estos 5 pacientes.

La mayoría de las mutaciones encontradas en el gen de TPO son *missense* (Ma et al., 2012) coincidiendo con los resultados de nuestro estudio. Se identificaron cuatro mutaciones diferentes en el gen de la TPO, una en el exón 15 (p.G860R) y tres en el exón 8 (p.N425S, p.T321N y p.L391P). La mutación G860R fue previamente descrita en pacientes de Eslovenia en el año 2007 (Avbelj et al., 2007) y la mutación N425S se encontró en pacientes portugueses en el año 2005 (Rodrigues et al., 2005). Las mutaciones T321N y L391P no han sido descritas en otros estudios y son predichas como de alta patogenicidad. De los 5 pacientes heterocigotos compuestos, 4 presentaron la mutación p.N425S y la nueva mutación p.T321N y un paciente portaba p.G860R y p.T321N en heterocigosis.

La mayoría de las mutaciones de TPO se localizan en los exones 7, 8 y 9 del gen que codifica el dominio de unión hemo catalítico de la proteína (Avbelj et al., 2007; Ris-Stalpers & Bikker, 2010). En nuestro estudio la mayoría de las mutaciones encontradas fueron en el exón 8 del sitio catalítico de la proteína (Cangül et al., 2015; Deladoéy et al., 2008). La mutación N425S es un cambio de un aminoácido ácido a neutro lo que es probable que influya en la transferencia de electrones y, en consecuencia, en la actividad enzimática de la proteína. La mutación encontrada en el exón 15 produce una sustitución de aminoácidos en la región transmembrana de TPO (Avbelj et al., 2007; Cangül et al., 2015; Deladoéy et al., 2008). El

cambio de la glicina hidrófoba a la arginina cargada positivamente perturba la inserción de la enzima TPO en la membrana plasmática (Avbelj et al., 2007). La mutación novel p.T321N en el exón 8, también se localiza dentro del dominio catalítico de TPO, lo que junto a la segregación en la familia y el alto porcentaje de patogenicidad in silico, señala que con alta probabilidad, la mutación altera el funcionamiento de la enzima.

Por último, se encontró una variante no descrita en heterocigosis (monoalélica) en el paciente F9.IV.2, en el exón 8, (p.L391P) que según predictSNP es patogénica al 72% de confianza. Este paciente presentó un HC severo según el valor de T4 y una glándula hipoplasia. Inició el tratamiento a los 10 días del nacimiento, con buen seguimiento, y la ecografía se realizó tras 9 años de tratamiento, lo que probablemente influyó en el resultado. Esta mutación novel L391P en el exón 8, de nuevo codifica parte del dominio catalítico de la proteína, siendo en un porcentaje alto dañino. Aunque la mayoría de los defectos en el gen de TPO siguen herencia recesiva, se han descrito casos de expresión monoalélica del alelo mutante. Sin embargo, los frecuentes polimorfismos poblacionales de este gen no se encontraron en ningún momento en homocigosis, siendo todos heterocigotos, lo que descarta esta posibilidad aludida.

La actividad enzimática de la TPO (organificación de yodo previamente oxidado a los residuos tirosil de la Tiroglobulina) depende en gran medida del nivel adecuado del yodo en el folículo (Deladoey et al., 2008). Por lo tanto es probable que el estado nutricional de yodo sea un factor determinante en la expresión clínica de los defectos de la organificación del yodo (Ris-Stalpers & Bikker, 2010).

Es por último reseñable la altísima tasa de consanguinidad de las familias que portaban defectos genéticos en este estudio, lo que encuentra paralelismo en otros estudios realizados en poblaciones con tolerancia social a la consanguinidad (Hashemipour, et al., 2012). En Turquía se encontró una mutación en homocigosis de TPO en dos hijos de padres consanguíneos, que se sugirió proveniente de un antepasado común fundador (Baş et al., 2014). Esto es probable también en Nicaragua, ya que encontramos una mutación muy frecuente (p.N425S) en 9 pacientes, 5 en homocigosis y 4 en heterocigosis compuesta, además de la mutación T321N identificada en 5 pacientes heterocigotos.

Sorprende no haber identificado mutaciones en el gen *DUOX2*, otra de las causas más frecuentes de dishormonogénesis que, en homocigosis y heterocigosis, causan hipotiroidismo grave y permanente, y que en heterocigosis pueden cursar con hipertirotopememia (Moreno et al., 2002). Esto se debe probablemente al hecho de que en la confirmación de los pacientes con HC, el valor de referencia de TSH utilizado en años anteriores fue de 10 mUI/l y con este

valor de corte probablemente se escapan los niños con hipotiroidismo leve, compatibles con alteraciones monoalélicas de este gen.

Probablemente el porcentaje de pacientes con alteraciones genéticas que causan HC en la población nicaragüense es mayor, ya que no fue posible hasta el momento estudiar genéticamente a todos los niños diagnosticados con HC en el país. La continuidad del presente estudio para abarcar a todos los niños Nicaragüenses confirmados con HC con paneles de secuenciación masiva nos dará un panorama más preciso del porcentaje real de pacientes hipotiroideos con aberraciones genéticas y una distribución, gen a gen, más ajustado en la etiología particular del hipotiroidismo en esta población centroamericana.

Estudio III. Evaluación del estado nutricional del yodo en mujeres embarazadas, recién nacidos y niños en Nicaragua mediante medición de yodo en orina, y de tiroglobulina y tirotrópina en sangre de cordón umbilical.

La población materno-infantil es la más vulnerable a la baja ingesta de yodo y se considera que durante el embarazo este déficit es un factor de riesgo para el desarrollo de hipotiroidismo fetal y sus graves consecuencias en el cerebro en formación. La prevención de hipotiroidismo fetal, (como el neonatal, si realiza lactancia materna) se basa a su vez en la prevención de las deficiencias tiroideas maternas (hipotiroidismo, hipotiroxinemia, hipertirotrópinemia) derivados de la deficiencia de yodo ambiental mediante la administración de suplementos de yodo (normalmente yoduro potásico), al inicio o preferiblemente con anticipación, al embarazo. Por lo tanto, la garantía de una ingesta adecuada de yodo y la vigilancia del estado tiroideo de las mujeres embarazadas en combinación con la detección del hipotiroidismo congénito en los recién nacidos, son medidas eficaces para evitar el efecto nocivo del hipotiroidismo cerebral, neonatal e infantil.

Para la evaluación del estado nutricional del yodo se han propuesto varios indicadores como la evaluación de yodurias en los escolares, gestantes y lactantes, evaluación de la hipertirotrópinemia en neonatos y evaluación de la Tg en spot de sangre seca en escolares de (5-14 años), estos dos últimos indicadores se incrementan en áreas con deficiencia de yodo y son complementarios a las yodurias (WHO 2007). Para la evaluación de la Tg en escolares se han realizado varios estudios tomando en cuenta el siguiente parámetro, valores de referencia normal de Tg de 4-40 ng/ml, una mediana < 13 ng/ml y valores de Tg > 40 ng/ml en menos del 3% de la población indica suficiente ingesta de yodo (Zimmerman et al., 2013 a 2013b; Zimmermann 2012; Skeaff et al., 2012), hay estudios que mencionan que la Tg puede ser usada para evaluar tanto la deficiencia como el exceso de ingesta de yodo en escolares (Zimmermann 2012). Actualmente este indicador ha sido utilizado para evaluar la deficiencia de yodo en embarazadas junto con las yodurias, en vista que no se dispone de rango de referencia de Tg en esta población, los estudios han utilizado los mismos parámetros que en los escolares (Hess S et al., 2016; Stinca Sara et al., 2016; Raverot et al., 2012). La Tg también ha sido utilizada en una población infantil de 6-24 meses para evaluar la nutrición de yodo, usando los mismos valores de referencia utilizados en escolares (Kumar et al., 2015).

Hay varios estudios que han utilizado TSH y Tg de suero del cordón al nacimiento para evaluar el estado nutricional de yodo, TSH (Kurtoglu et al., 2004; Elton et al., 2001; Chakraborty et al., 2006; Azizi et al., 2011; Rajatanavi et al., 2007) y Tg (Kurtoglu et al., 2004; Elton et al., 2001;

Chakraborty et al., 2006; Azizi et al., 2011). Los valores de corte para TSH son $TSH > 5$ mU/l en sangre total y 10 mU/l en suero en menos del 3% de la población indica suficiente ingesta de yodo en esta población. Una frecuencia de 3-19.9% indica deficiencia de yodo leve, 20-39.9% deficiencia moderada y mayor de 40% grave (WHO 1994, y para Tg de 2-54 ng/ml. (Kurtoglu et al., 2004).

En nuestro estudio para la valoración de la deficiencia de yodo en los escolares y gestantes hemos utilizado yodurias y en neonatos valorado TSH y Tg.

Varios informes recientes son optimistas con respecto a los Desordenes por Deficiencia de yodo DDI en América Latina. Recientemente, Latinoamérica ha sido considerada libre de DDI (Pretell et al., 2017). Sin embargo los datos presentados en la mayoría de los países son de más de 5 años de antigüedad, por lo que en la actualidad se desconoce la situación nutricional de yodo. Según instancias internacionales (<https://data.unicef.org/country/nic/#>) la proporción de hogares que consumen sal yodada en Nicaragua es del 97 por ciento. Por otro lado, el estudio realizado a nivel nacional en el año 2007 (<http://www.ign.org/nicaragua.htm>; Pretell 2014) concluyó que el estado nutricional de yodo de la población de Nicaragua es adecuado. En contraste, con nuestros resultados directos con medición de yoduria en sectores poblacionales sensibles, determinación de tiroglobulina y TSHs en sangre y suero de cordón (parámetros que se han propuesto también como informativos sobre la deficiencia de yodo) y, de manera destacada, la determinación real del contenido en yodo de las sales comerciales disponibles en Nicaragua, demuestran que en la población estudiada el estado nutricional de yodo no es tan bueno y reflejan una insuficiente nutrición de yodo.

En el estudio realizado en Nicaragua a nivel nacional en el año 2007 en 443 escolares, la mediana de concentración urinaria de yodo fue de 196 $\mu\text{g/l}$ un valor claramente superior al encontrado por nosotros en 2015 de 33 $\mu\text{g/l}$ en niños escolares (y también en contraste con nuestros datos de mediana de 60 $\mu\text{g/l}$ en mujeres embarazadas) en la provincia de León. Un 66,5% de éstos niños tenían niveles de yodo urinario por debajo de 100 $\mu\text{g/l}$, que marca el umbral para la suficiencia de nutrición yodada a esta edad, y el 55% incluso presentaron concentraciones menores de 50 $\mu\text{g/l}$, indicando deficiencia moderada. En el caso de las gestantes, el 71% tenían niveles de yodo por debajo de 150 $\mu\text{g/l}$ (límite de la suficiencia de yodo en la situación de embarazo), y el 35% de la población gestante tiene una deficiencia de yodo muy severa, ya que presentan concentraciones menores de 50 $\mu\text{g/l}$. En ambos casos es una cifra estadística indicativa de la DDI en la población (World Health Organization, 2007; Zimmermann, 2009), que presenta mayor riesgo de enfermedad tiroidea. Los resultados

encontrados en los escolares no son consistentes con lo encontrado en otros países Latinoamericanos México 277 µg/l, Venezuela 180 µg/l, Panamá 291 µg/l , El Salvador 206 µg/l, Guatemala, 144 µg/l, Costa Rica 314 µg/l, Honduras 356 µg/l, observando que los dos últimos presentan exceso de yodo (Pretell, 2014; Pretell et al., 2017). En el caso de las mujeres embarazadas nuestros resultados sí concuerdan con lo encontrado en otros países como Argentina, Brasil, México o Guatemala, ellos encontraron medianas de yodo de entre 79-138 µg/l, no así en Venezuela, donde se encontró una ingesta adecuada de yodo (Pretell, 2014; Caballero, 2011).

Aunque la excreción urinaria de yodo está sometida a oscilaciones diarias (Rasmussen et al, 1999, Zimmermann, 2008), la mediana de yodurias en estudios poblacionales está plenamente validada como indicador de deficiencia de yodo. No obstante, hemos investigado también otros parámetros utilizados o recientemente propuestos como indicadores alternativos o complementarios de la deficiencia poblacional de yodo: el % de TSH neonatales superior a 5 mU/L en sangre total (10 mU/l en suero) y los niveles de Tg neonatal superiores a 54 ng/ml,

En nuestro estudio los porcentajes de recién nacidos con niveles séricos de TSH de sangre de cordón superiores a 5 mU /l y en suero de cordón superior a 10 mU /l, respectivamente fueron del 8,7% y del 15,4%, indicativos de una deficiencia leve de yodo en esta población, ya que cae dentro del rango de 3-19.9% de valores de TSH mayor a 5 mU/l, según criterios internacionales (World Health, 1996; World Health Organization, 2001, WHO 2007), así como los niveles de Tg (72% por encima de 54 ng/ml) también indicativo de deficiencia de yodo

En nuestro estudio el rango de TSH encontrado fue de de 1-24 mU/l, el rango de Tg fue de (13-312 ng/ml). En un estudio realizado en Turquía (una zona con deficiencia de yodo severa en el pasado), encontraron un rango de TSH de 1- 30.5 mU/l y de Tg de entre 7.1–598 ng/ml) (Kurtoglu 2004). Ellos concluyen que hay hipersensibilidad de los recién nacidos a los efectos de la deficiencia de yodo con concentraciones de tiroglobulina y TSH indicando insuficiente saturación de los receptores de T3 del desarrollo del cerebro y del riesgo irreversible del daño cerebral (Kurtoglu et al, 2004). En un estudio realizado en Sudan en un área con deficiencia leve de yodo, encontraron un rango de TSH de 4.7-12.4 mU/L y Tg entre 40.2-98.2 ng/ml, y concluyen que, en las zonas con deficiencia de yodo leve, los neonatos pueden estar en el límite de la descompensación, como lo demuestran sus niveles aumentados de TSH y Tg (Eltom et al., 2001). Si comparamos estos resultados con un estudio realizado en Teheran (Irán)

en un área suficiente de yodo, encontraron valores de TSH entre 5.3- 10.3 mU/L y rango de Tg de 12-40 ng/ml, y concluyen que los recién nacidos en un área con un programa sostenido de suplementación de yodo, no están en riesgo de alteración en la función tiroidea (Azizi et al 2011).

En dos estudios de suplementación de yodo de madres durante el embarazo, encontraron valores de Tg (31- 113 µg/l) el doble de concentración en los recién nacidos de madres que recibieron placebo o que no tomaron suplementos durante el embarazo, comparado con los recién nacidos de madres que tomaron suplementos de yodo (31-65 µg/l) (Feei & Skeaff, 2014)

Tomando en cuenta los resultados encontrados en los diferentes estudios, se puede decir que los valores de TSH y Tg se incrementan en áreas deficientes de yodo. Por tanto los resultados de la función tiroidea de los neonatos de nuestro estudio, en el caso de TSH revela una deficiencia de yodo poblacional leve (15.4%, entre 3 y 19,9%). En las embarazadas no hay una clasificación de la severidad de la deficiencia de yodo, sin embargo si usamos los parámetros indicado para escolares, la mediana de yoduria encontrada en las gestantes (60 µg/l) indica también deficiencia leve (o incluso moderada) de yodo (entre 50-99 µg/l), por lo que esta población está en situación claramente vulnerable a los desórdenes por deficiencia de yodo y están en riesgo de padecer enfermedades tiroideas.

Al correlacionar las yodurias de las gestantes con las TSH y Tg de sus bebés recién nacidos se encontró que las yodurias maternas se correlacionaban negativamente tanto con la TSH como con la Tg sérica neonatal. El grado de correlación estadística alcanzó el rango de significancia ($p < 0.05$) entre las yodurias de las madres y TSH de los neonatos. Este resultado es consistente a lo encontrado en un estudio realizado en Tailandia (Rajatanavin, 2007), indicando que existe una asociación entre la ingesta de yodo de las madres y la función tiroidea de los neonatos. En el caso de la Tg, la correlación tiene un nivel de significado estadístico borderline ($p = 0.053$), por lo que se pudiera considerar que un tamaño muestral más amplio pudiera hacer traspasar el nivel de significancia. La glándula tiroides de los neonatos tiene limitada reserva de yodo y en deficiencia leve de yodo incrementará la secreción de la TSH, por lo que el estado nutricional del yodo de la madre puede influir sobre las concentraciones de TSH en los

neonatos y ésta población en Nicaragua también se encuentra, por tanto, en una situación de vulnerabilidad ante a los trastornos por deficiencia de yodo.

La evaluación de la hipertirotropinemia neonatal >5 mU/, mediante el uso de TSH en sangre de cordón umbilical está contemplado por la OMS, sin embargo menciona que son valores más altos que los obtenidos en sangre a las 48 horas de vida de los neonatos. En nuestro estudio encontramos correlación de las concentraciones de TSH de los neonatos con las yodurias de las madres. En ambas variables se encontró deficiencia de yodo leve de acuerdo a los criterios de la OMS. Con los resultados encontrados en nuestro estudio, nosotros sugerimos que el uso de TSH de sangre de cordón de neonatos en conjunto con las yodurias de las madres puede ser usado para la evaluación de la nutrición de yodo en esta población.

En el caso de la Tg se ha encontrado correlación borderline entre las yodurias de las madres y Tg de sus neonatos, por lo que nuestros resultados, sugieren que tanto la TSH como la Tg son complementarios al estudio de las yodurias para la valoración del estado nutricional de yodo en la población de gestantes y neonatos.

Los datos de la insuficiente ingesta de yodo en la población estudiada pueden ser reflejo de una insuficiente yodación de las sales comerciales en Nicaragua. De las once muestras de diferentes marcas de sal yodada analizadas, 4 muestras tenían contenido en yodo inferior al mínimo recomendado (15 mg/kg) y 5 (45%) de las muestras por debajo del mínimo adecuado (20-40 mg/Kg, según criterio de la WHO, 2007). Este resultado no es consistente al encontrado en el estudio nacional realizado en Nicaragua en el año 2007, donde el 81% de las muestras de sal tenían concentraciones de yoduro superiores a 15 mg/Kg de sal.

Posiblemente, población general de Nicaragua se encuentre en deficiencia de yodo leve, tomando en cuenta los valores de TSH del programa de cribado neonatal de HC y las yodurias de las gestantes, y este estado de deficiencia leve de yodo puede ser más marcado en las poblaciones más vulnerables como las gestantes y los niños escolares.

VI Conclusiones

1. En el programa de cribado de HC en Nicaragua se diagnosticaron 80 niños con HC durante el período 2005-2015, alcanzando una incidencia media de 1:3,399 nacidos vivos en este período. La cobertura del programa fue del 71%, el valor predictivo positivo del 83% y la tasa de reexaminados del 63%.
2. El análisis de datos del propio cribado (nivel de TSH neonatal en sangre de cordón), de su confirmación sérica (niveles de TSH, T4 y tiroglobulina) y el seguimiento clínico de los pacientes indican que la mayoría de casos presentan un hipotiroidismo profundo, con concentraciones de T4 a la confirmación prácticamente indetectables. Un alto porcentaje presenta grados variables de deficiencia mental, alguno de ellos muy grave (con fenotipos de cretinismo clásico).
3. Reduciendo el punto de corte del cribado, desde 20 mU/L hasta 10 mU/L de TSH no condujo a una mayor captación de niños y empeoró el valor predictivo positivo del cribado en aproximadamente 20 puntos (de 83% al 62.5%). Todos los casos detectados entre 10-20 mU/L resultaron ser falsos positivos. Esto indica que el cut-off de 20 mU/L de TSH es el óptimo para la estrategia Nicaragüense de un cribado neonatal de HC colectando sangre de cordón al nacimiento.
4. Se identificó la base genética del hipotiroidismo en el 29% de los pacientes estudiados, existiendo una tasa muy alta de consanguinidad entre los padres de niños hipotiroideos estudiados. El mayor porcentaje de las mutaciones encontradas fue en el gen TPO, causante de defectos dishormogénicos tiroideos graves en el estado homocigoto. Es destacable la prevalencia de la mutación patogénica p.N425S, identificada en 9 pacientes, tanto en homocigosis como en heterocigosis compuesta, podría relacionarse con un ancestro fundador común en la Península Ibérica (se describió por primera vez en Portugal). Se encontró una nueva mutación en el receptor de TSH (p.C398G) en homocigosis, y dos mutaciones aun no descritas en el gen TPO (p.T321N y p.L391P) cuya predicción de patogenicidad *in silico* indica que son dañinas para la función de la proteína.
5. La vigilancia de la nutrición de yodo en Nicaragua, debe ser reforzada, ya que en éste estudio se verificó una deficiencia de yodo de leve-moderada en un porcentaje elevado en dos poblaciones de riesgo: niños escolares (66.5%) y mujeres gestantes (71%,) siguiendo los criterios de la OMS. Se verificó una asociación entre el déficit de yodo de las gestantes y la función tiroidea de sus neonatos, existiendo correlación negativa (significativa y borderline, respectivamente) entre las yodurias maternas y los niveles de TSH y Tiroglobulina en sangre de cordón. Por tanto, se debería instaurar un programa nacional gubernamental de vigilancia de suplementación yodada durante el embarazo y de yodación correcta de la sal comercial, que en casi la mitad de casos no alcanzan la concentración de yodo exigible. La deficiencia de yodo poblacional puede estar influyendo en el fenotipo grave de los niños nicaragüenses con Hipotiroidismo congénito.

6. El futuro del cribado neonatal de HC en Nicaragua debe concentrarse en: 1) ampliar la cobertura de la detección a todo el país, ya que sólo el 18,1% de los bebés se benefició de la detección del HC a lo largo de los 10 años de funcionamiento del programa, 2) aumentar la tasa de reexaminación de bebés positivos y 3) reducir el lapso de tiempo que transcurre entre el diagnóstico e inicio del tratamiento del HC. Con los presentes hallazgos, sugerimos que en las unidades de salud se les informé a los familiares de la importancia de un tratamiento temprano de esta enfermedad para preservar el desarrollo neurológico de los bebés. Para lograr estos objetivos, se requiere la inexcusable participación oficial de las autoridades sanitarias y del sistema nacional de salud en los próximos años.

VII. Bibliografía

Abduljabbar, M., Shahri, A. A., & Afifi, A. (2009). Is umbilical cord blood total thyroxin measurement effective in newborn screening for hypothyroidism? *Journal of medical screening*, 16(3), 119-123.

Al-Jurayyan, N. A. M., A.A., A.-N., M.I., E.-D., A.S., A. H., A.M., A. B., A., A. S., et al. (1997). Neonatal screening for congenital hypothyroidism in Saudi Arabia: Results of screening the first 1 million newborns. . *Early Human Development*, 47(1), 102-103.

Anju Seth, M. Rashmi, Bhanu Kiran Bhakhri, et al (2014). Neonatal thyroid screening: Relationship between cord blood thyroid stimulating hormone levels and thyroid stimulating hormone in heel prick sample on 4th to 7th day-of-life. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 18 (1).

Ares, S., Quero, J., & Morreale, G. (2005). Neonatal iodine deficiency: clinical aspects. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism*, 18, 1257-1264.

Ares, S., Quero, J., & Morreale, G. (2009). Enfermedades frecuentes del tiroides en la infancia. *Pediatría Atención Primaria*, 11, 173-204.

Ascoli, W., & Arroyave, G. (1970). Epidemiology of endemic goitre in Central America. Relation between prevalence and excretion of I in urine. *Arch. latinoamer. Nutricion*, 20, 309-320.

Ascurra, M., Rodríguez, S., Valenzuela, A., Blanco, F., Ortiz, L., & Samudio, M. (2011). Incidencia de hipotiroidismo congénito en 14 regiones sanitarias del Paraguay. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 50(1), 51-56.

Ascurra M., Rodríguez S., Valenzuela A., Blanco F., Ortiz L., & Samudio M. (2007, september 16-19). *Incidence of congenital hypothyroidism in 14 sanitary regions in Paraguay*. Paper presented at the VI Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal, Punta del Este (Uruguay).

Avbelj, M., Tahirovic, H., Debeljak, M., Kusekova, M., Toromanovic, A., Krzysnik, C., et al. (2007). High prevalence of thyroid peroxidase gene mutations in patients with thyroid dyshormonogenesis. *EurJEndocrinol*, 156.

Azizi F, Hosseini M, Amouzegar A, Tohidi M, Ainy E. (2011) Neonatal thyroid status in an area of iodine sufficiency. *J. Endocrinol. Invest.*; 34: 197-200.

Baş, V. N., Aycan, Z., Cangul, H., Kendall, M., Ağladioğlu, S. Y., Çetinkaya, S., et al. (2014). A common thyroid peroxidase gene mutation (G319R) in Turkish patients with congenital hypothyroidism could be due to a founder effect. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 27(3-4), 383-387.

Bernal, J. (2015). Thyroid hormones in brain development and function. *Thyroid Diseases Manager* Retrieved May 1, 2017, from

<http://www.thyroidmanager.org/chapter/thyroid-hormones-in-brain-development-and-function/>

Borrajo, G. J. C. (2007). Newborn screening in Latin America at the beginning of the 21st century. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 30(4), 466-481.

Botler, J., Camacho, L. A. B., & Cruz, M. M. d. Phenylketonuria, congenital hypothyroidism and haemoglobinopathies: public health issues for a Brazilian newborn screening program. *Cadernos de saude publica*, 2012; 28(9), 1623-1631.

Buyukbebiz, A. Newborn screening for congenital hypothyroidism. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 2013;5(Suppl 1), 8.

Cangül, H., Doğan, M., & Üstek, D. (2015). A Homozygous Nonsense Thyroid Peroxidase Mutation (R540X) Consistently Causes Congenital Hypothyroidism in Two Siblings Born to a Consanguineous Family. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 7(4), 323.

Castilla Peón, M. F. (2015). Hipotiroidismo congénito. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 72(2), 140-148.

Connelly, K.-J., Boston, B. A., Pearce, E. N., Sesser, D., Snyder, D., Braverman, L. E., et al. (2012). Congenital hypothyroidism caused by excess prenatal maternal iodine ingestion. *The Journal of pediatrics*, 161(4), 760-762.

Corbetta, C., Weber, G., Cortinovis, F., Calebiro, D., Passoni, A., Vigone, M. C., et al. (2009). A 7-year experience with low blood TSH cutoff levels for neonatal screening reveals an unsuspected frequency of congenital hypothyroidism (CH). *Clinical endocrinology*, 71(5), 739-745.

Caballero L. (2011). Yodurias en escolares y embarazadas del estado de trujillo, venezuela 2007-2008. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 48(4), 206-211.

Chakraborty, I., Chatterjee, S., Bhadra, D., Mukhopadhyaya, B., Dasgupta, A., Purkait B. (2006). Iodine deficiency disorders among the pregnant women in a rural hospital of West Bengal. *Indian J Med Res*, 123, 825-829.

Chan, S., & Kilby, M. D. (2000). Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol*, 165(1), 1-8.

Chan, S. Y., Vasilopoulou, E., & Kilby, M. D. (2009). The role of the placenta in thyroid hormone delivery to the fetus. *Nat Clin Pract End Met*, 5(1), 45-54.

Chopra, I. J. (1972). A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 34(6), 938-947.

Chopra, I. J., Solomon, D. H., & Beall, G. N. (1971). Radioimmunoassay for measurement of triiodothyronine in human serum. *J Clin Invest*, 50(10), 2033-2041.

Dattani, M., & Gevers, E. F. (2017). Endocrinology of fetal Development

In K. S. P. Shlomo Melmed, P. Reed Larsen and Henry M. Kronenberg (Ed.), *Williams Textbook of Endocrinology (Thirteen Edition)* (pp. 849-892): Elsevier Inc.

De Benoist, B., Andersson, M., Egli, I. m., El Bahi, T., Allen, H., & World Health, O. (2004). Iodine status worldwide: WHO global database on iodine deficiency.

De Benoist, B., McLean, E., Andersson, M., & Rogers, L. (2008). Iodine deficiency in 2007: global progress since 2003. *Food Nutr Bull*, 29(3), 195-202.

De Bernal, M., Caldas, M., Bonilla, R. D., Chamorro, G. A., & Matallana, A. (2003). Tamización para hipotiroidismo congénito en Cali y constitución de un centro piloto de referencia para la identificación temprana de la enfermedad. *Colombia Médica*, 34(1), 40-46.

Deladoéy, J., Pfarr, N., Vuissoz, J.-M., Parma, J., Vassart, G., Biesterfeld, S., et al. (2008). Pseudodominant inheritance of goitrous congenital hypothyroidism caused by TPO mutations: molecular and in silico studies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(2), 627-633.

Deladoéy, J. Vassart, G., and Van, Vliet G., (2007) Possible non-Mendelian Mechanism of thyroid dysgenesis.

Delange, F. (1997). Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *HormRes*, 48.

Djemli A, Van Vliet G, Belgoude J, Lambert M, and Delvin EE. (2004) References intervals for free thyroxine, total triiodothyronine, thyrotropin and thyroglobulin for Quebec newborns, children and teenagers. *Clinical Biochem* 37: 328-330.

Desai, M., Vishwanath, T., Sheth, A. R., & Raikar, R. S. (1978). Neonatal screening for hypothyroidism--a review experience with thyrotropin estimation in the newborn. *Indian Pediatr*, 15(6), 463-467.

Dumitrescu, A. M., Liao, X.-H., Abdullah, M. S. Y., Lado-Abeal, J., Majed, F. A., Moeller, L. C., et al. (2005). Mutations in SECISBP2 result in abnormal thyroid hormone metabolism. *Nature genetics*, 37(11), 1247-1252.

Dumitrescu AM, Liao X-H, Best TB, Brockmann K, Refetoff S. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 168-175.

Dunn, J. T. (2001). Endemic goiter and cretinism: an update on iodine status. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 14 Suppl 6, 1469-1473.

Dussault, J., & Laberge, C. (1973). Thyroxine (T4) determination in dried blood by radioimmunoassay: a screening method for neonatal hypothyroidism. *Union Med Can*, 102, 262-264.

Dussault, J. H. (1999). The anecdotal history of screening for congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(12), 4332-4334.

Dussault, J. H., Coulombe, P., Laberge, C., Letarte, J., Guyda, H., & Khoury, K. (1975). Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism *J Pediatr*, 86(5), 670-674.

Dussault, J. H., & Laberge, C. (1972). A new method for detection of hypothyroidism in the newborn. *Clin Res*, 20, 918.

Elton A, Elton M, Idris M, Gebre-Medhin M. (2001). Thyroid function in the newborn in relation to maternal thyroid status during labour in a mild iodine deficiency endemic area in Sudan. *Clin Endocrinol(Oxf)*; 55(4):485-90.

Escobar del Rey, F., Ruiz de Ona, C., Bernal, J., Obregon, M. J., & Morreale de Escobar, G. (1989). Generalized deficiency of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T3) in tissues from rats on a low iodine intake, despite normal circulating T3 levels. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 120(4), 490-498.

Escobar del Rey, F., Sanchez Franco, F., & Ferreiro Alaez, L. (1973). [The epidemic goiter of Las Hurdes. II. Parameters that indicate the existence of an iodine deficiency]. *Rev Clin Esp*, 130(1), 7-18.

Eskandari, S., Loo, D. D., Dai, G., Levy, O., Wright, E. M., & Carrasco, N. (1997). Thyroid Na⁺/I⁻ symporter. Mechanism, stoichiometry, and specificity. *J Biol Chem*, 272(43), 27230-27238.

Fagge, C. H. (1871). On sporadic cretinism, occurring in England. *Medico-chirurgical transactions*, 54, 155.

Feei, Z., and Skeaff, S., (2014). Thyroglobulin as a Biomarker of Iodine Deficiency: A Review. *THYROID*. 24(8). doi: 10.1089/thy.2014.0052.

Fisher, D. (2005). Next Generation Newborn Screening for Congenital Hypothyroidism? *J Clin Endocrinol Metab*, 90, 3797–3799.

Fisher, D. A. (1977). Screening for congenital hypothyroidism. *Hosp Pract*, 12(12), 73-78.

Fisher, D. A., Dussault, J. H., Foley, T. P., Jr., Klein, A. H., LaFranchi, S., Larsen, P. R., et al. (1979). Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. *J Pediatr*, 94(5), 700-705.

Foo, L. C., Zulfiqar, A., Nafikudin, M., Fadzil, M. T., & Asmah, A. S. (1999). Local versus WHO/International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders-recommended

thyroid volume reference in the assessment of iodine deficiency disorders. *European journal of endocrinology*, 140(6), 491-497.

Ford, G., & LaFranchi, S. H. (2014). Screening for congenital hypothyroidism: a worldwide view of strategies. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 28(2), 175-187.

Friesema, E. C., Jansen, J., Heuer, H., Trajkovic, M., Bauer, K., & Visser, T. J. (2006). Mechanisms of disease: psychomotor retardation and high T3 levels caused by mutations in monocarboxylate transporter 8. *Nature clin pract endocrinol metab*, 2.

Friesema ECH, Ganguly S, Abdalla A, Manning Fox JE, Halestrap AP, Visser TJ. (2003). Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. *J Biol Chem* 2003; 278: 40128-35.

Fu, C., Xie, B., Zhang, S., Wang, J., Luo, S., Zheng, H., et al. (2016). Mutation screening of the TPO gene in a cohort of 192 Chinese patients with congenital hypothyroidism. *BMJ Open*, 6(5), e010719.

García- G, M., Alejo-Armenta, L., & Dauttleyva, J.G. (2012). Prevalencia de Hipotiroidismo Congénito en Sinaloa Dentro del Programa de Tamiz Neonatal. *Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa. Arch Salud Sin*, 6(1), 15-19.

Golbahar, J., Al-Khayyat, H., Hassan, B., Agab, W., Hassan, E., & Darwish, A. (2010). Neonatal screening for congenital hypothyroidism: a retrospective hospital based study from Bahrain. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 23(1-2), 39-44.

González, V. G., Santucci, Z. C., Pattin, J., Apezteguía, M., & Borrajo, G. (2007). Newborn screening for congenital hypothyroidism in the province of Buenos Aires. Ten years experience in 1.377.455 evaluated children. *Arch Argent Pediatr*, 105(5), 390-397

Grasberger, H. (2010). Defects of thyroidal hydrogen peroxide generation in congenital hypothyroidism. *Molecular and cellular endocrinology*, 322(1), 99-106.

Haldimann, M., Alt, A., Blanc, A., & Blondeau, K. (2005). Iodine content of food groups. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(6), 461-471.

Hashemipour, M., Hovsepian, S., & Kelishadi, R. (2012). High prevalence of congenital hypothyroidism in Isfahan: do familial components have a role? *Advanced biomedical research*, 1(1), 37.

Hess, S., Quédraogo, C., Young, R., Bamb, I., Stinka, S., Zimmermann, M., et al., (2016) Urinary iodine concentration identifies pre-pregnant women as iodine deficient yet school-age children as iodine sufficient in rural Niger. *Public Health Nutrition*. (1-8) doi:10.1017/s1368980016003232.

Hetzel, B. S. (1999). Iodine Deficiency and the Brain. *Nutr Neurosci*, 2(6), 375-384.

Hubner, U., Englisch, C., Werkmann, H., Butz, H., Georgs, T., Zabransky, S., et al. (2002). Continuous age-dependent reference ranges for thyroid established using the ADVIA Centaur Analyzer. *Clin Chem Lab Med*, 40, 1040-1047.

Iodine Global Network. (2016). The Iodine Global Network: 2016 Annual Report. from http://www.ign.org/cm_data/IGN_Annual_Report_2016.pdf

Jaruratanasirikul, S., Sangsupawanich, P., Koranantakul, O., Chanvitan, P., Ruaengrairatanaroj, P., Sriplung, H., et al. (2009). Maternal iodine status and neonatal thyroid-stimulating hormone concentration: a community survey in Songkhla, southern Thailand. *Public Health Nutr*, 12(12), 2279-2284.

Kempers, M. J., Lanting, C. I., van Heijst, A. F., van Trotsenburg, A. S., Wiedijk, B. M., de Vijlder, J. J., et al. (2006). Neonatal screening for congenital hypothyroidism based on T4, TSH and TBG measurement: Potentials and pitfalls. *J Clin Endocrinol Metab*.

Kempers, M. J., van der Sluijs Veer, L., Nijhuis-van der Sanden, M. W., Kooistra, L., Wiedijk, B. M., Faber, I., et al. (2006). Intellectual and motor development of young adults with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening. *J Clin Endocrinol Metab*, 91.

Kapelari K, Kirchlechner C, Hogler W, Schweitzer K, Virgolini I and Moncayo R. (2008). Pediatric reference intervals for thyroid hormone levels from birth to adulthood: a retrospective study. *BMC Endocrine Disorders*. 8:15,

Klein, A. G., & Foley, T. P., Jr. (1975). Letter: Screening for hypothyroidism. *J Pediatr*, 87(4), 668-668.

Klein, A. H., Agustin, A. V., & Foley, T. P., Jr. (1974). Successful laboratory screening for congenital hypothyroidism. *Lancet*, 2(7872), 77-79.

Kleinau, G., Worth, C. L., Kreuchwig, A., Biebertmann, H., Marcinkowski, P., Scheerer, P., et al. (2017). Structural–Functional Features of the Thyrotropin Receptor: A Class A G-Protein-Coupled Receptor at work. *Frontiers in endocrinology*, 8.

Kurtoglu, S., Akcakus, M., Kocaoglu, C., Gunes, T., Budak, N., Atabek, M. E., et al. (2004). Iodine status remains critical in mother and infant in Central Anatolia (Kayseri) of Turkey. *Eur J Nutr*, 43(5), 297-303.

Kumar A, Chatterjee N and Ghosh G, (2005) Umbilical Cord Blood TSH Levels in Term Neonates: A Screening Tool for Congenital Hypothyroidism. *Indian Pediatric* 2:1029-31.

LaFranchi, S. (2014). Worldwide Coverage of Newborn Screening for congenital hypothyroidism A Public Health Challenge. *US Endocrinology*, 10(2), 115-116.

- LaFranchi, S. H. (2011a). Approach to the diagnosis and treatment of neonatal hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(10), 2959-2967.
- LaFranchi, S. H. (2011b). Increasing incidence of congenital hypothyroidism: some answers, more questions. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(8), 2395-2397.
- LaFranchi, S. H. (2014). Screening preterm infants for congenital hypothyroidism: better the second time around. *J Pediatr*, 164(6), 1259-1261.
- Lee, C. C., Harun, F., Jalaludin, M. Y., Heh, C. H., Othman, R., & Junit, S. M. (2015). Prevalence of c. 2268dup and detection of two novel alterations, c. 670_672del and c. 1186C> T, in the TPO gene in a cohort of Malaysian-Chinese with thyroid dyshormonogenesis. *BMJ open*, 5(1), e006121.
- Léger, J., Olivieri, A., Donaldson, M., Torresani, T., Krude, H., Van Vliet, G., et al. (2014). European Society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. *Hormone Research in Paediatrics*, 81(2), 80-103.
- Ma, S.-G., Wu, X.-J., Liu, H., Xu, W., & He, L. (2012). Mutations of the thyroid peroxidase gene in Chinese siblings with congenital goitrous hypothyroidism. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 56(9), 614-617.
- Ma, Z. F., & Skeaff, S. A. (2014). Thyroglobulin as a biomarker of iodine deficiency: a review. *Thyroid*, 24(8), 1195-1209.
- Maciel, L. M. Z., Kimura, E. T., Nogueira, C. R., Mazeto, G. M. F. S., Magalhães, P. K. R., Nascimento, M. L., et al. (2013). Congenital hypothyroidism: recommendations of the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 57(3), 184-192.
- Manglik, A. K., Chatterjee, N., & Ghosh, G. (2005). Umbilical cord blood TSH levels in term neonates: a screening tool for congenital hypothyroidism. *Indian Pediatr*, 42(10), 1029-1032.
- Marrero, N., Frómeta, A., Coto, R., & Villegas, L. (2000). Medición de TSH, T4 y Phe en muestras de sangre del cordón umbilical en papel de filtro: impacto en el tamizaje neonatal. *Biomédica*, 20(1), 33-41.
- Montanelli, L., & Tonacchera, M. (2010). Genetics and phenomics of hypothyroidism and thyroid dys- and agenesis due to PAX8 and TTF1 mutations. *Mol Cell Endocrinol*, 322(1-2), 64-71.
- Morales, J. I. C., Ramírez, G., Grajales, C., Nishimura, E., Delgado, E. E., Cárdenas, H. M., et al. (2007, september 16-19). *Results of the national neonatal screening program for congenital hypothyroidism (CH) in the Mexican Institute of the Public Health. 1994 - 2006*. Paper presented at the VI Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal.

Moreno, J. C., Bikker, H., Kempers, M. J., van Trotsenburg, A. S., Baas, F., de Vijlder, J. J., et al. (2002). Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med*, 347.

Moreno, J. C., Klootwijk, W., van Toor, H., Pinto, G., D'Alessandro, M., Leger, A., et al. (2008). Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *NEnglJMed*, 358.

Moreno JC and Visser TJ. (2005). Genetics of thyroid disease. *Thyroid Highlights*; 13-17.

Moreno JC, de Vijlder JJM, Vulsma T, Ris-Stalpers C. (2003) Genetic basis of hypothyroidism: recent advances, gaps and strategies for future research. *Trends Endocrinol. Metab.* 14: 318-326.

Moreno JC. (2003). Identification of novel genes involved in congenital hypothyroidism using Serial Analysis of Gene Expression. *Horm. Res.* 60: 96- 102.

Morreale de Escobar, G., & Ares, S. (1998). The hypothyroxinemia of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(2), 713-716.

Morreale de Escobar, G., & Escobar, F. (2008). Metabolismo de las hormonas tiroideas y el yodo en el embarazo. Razones experimentales para mantener una ingesta de yodo adecuada en la gestación. *Endocrinología y Nutrición*, 55, 7-17.

Morreale de Escobar, G., Obregon, M. J., Calvo, R., & Escobar del Rey, F. (1991). Maternal thyroid hormones during pregnancy: effects on the fetus in congenital hypothyroidism and in iodine deficiency. *Adv Exp Med Biol*, 299, 133-156.

Morreale de Escobar, G., Obregon, M. J., & Escobar del Rey, F. (2007). Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr*, 10(12A), 1554-1570.

Narumi, S., & Hasegawa, T. (2015). TSH resistance revisited [Review]. *Endocrine journal*, 62(5), 393-398.

Narumi, S., Muroya, K., Abe, Y., Yasui, M., Asakura, Y., Adachi, M., et al. (2009). TSHR mutations as a cause of congenital hypothyroidism in Japan: a population-based genetic epidemiology study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(4), 1317-1323.

Nicola, J. P., Basquin, C. c., Portulano, C., Reyna-Neyra, A., Paroder, M., & Carrasco, N. (2009). The Na⁺/I⁻ symporter mediates active iodide uptake in the intestine. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 296(4), C654-C662.

Nicoletti, A., Bal, M., De Marco, G., Baldazzi, L., Agretti, P., Menabo, S., et al. (2009). Thyrotropin-stimulating hormone receptor gene analysis in pediatric patients with non-autoimmune subclinical hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(11), 4187-4194.

Odell, W. D., Wilber, J. F., & Paul, W. E. (1965). Radioimmunoassay of human thyrotropin in serum. *Metabolism*, 14(4), 465-467.

Odell, W. D., Wilber, J. F., & Paul, W. E. (1965). Radioimmunoassay of thyrotropin in human serum. *J Clin Endocrinol Metab*, 25(9), 1179-1188.

Osler, W. (1893). Sporadic cretinism in America *The American Journal of the Medical Sciences*, 114(4), 377-400.

Panoutsopoulos, G., Mengreli, C., Ilias, I., Batsakis, C., & Christakopoulou, I. (2001). Scintigraphic evaluation of primary congenital hypothyroidism: results of the Greek screening program. *Eur J Nucl Med*, 28(4), 529-533.

Paredes, g., Castro, B., Lay, S., Vila del Prado, R., (2003) Programa de diagnóstico precoz de hipotiroidismo congénito en contramaestre durante 12 años. *MEDISAN*. 7(2), 22-26.

Park, K.-J., Park, H.-K., Kim, Y.-J., Lee, K.-R., Park, J.-H., Park, J.-H., et al. (2016). DUOX2 mutations are frequently associated with congenital hypothyroidism in the Korean population. *Annals of laboratory medicine*, 36(2), 145-153.

Park, S. M., & Chatterjee, V. K. (2005). Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet*, 42(5), 379-389.

Pearce, E. N., & Caldwell, K. L. (2016). Urinary iodine, thyroid function, and thyroglobulin as biomarkers of iodine status. *Am J Clin Nutr*, 104 Suppl 3, 898S-901S.

Pearce, E. N., Pino, S., He, X., Bazrafshan, H. R., Lee, S. L., & Braverman, L. E. (2004). Sources of dietary iodine: bread, cowsâ€™ milk, and infant formula in the Boston area. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(7), 3421-3424.

Pennington, J. A. T., Schoen, S. A., Salmon, G. D., Young, B., Johnson, R. D., & Marts, R. W. (1995). Composition of Core Foods of the US Food Supply, 1982-1991: III. Copper, Manganese, Selenium, and Iodine. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8(2), 171-217.

Persani, L., Calebiro, D., Cordella, D., Weber, G., Gelmini, G., Libri, D., et al. (2010). Genetics and phenomics of hypothyroidism due to TSH resistance. *Molecular and cellular endocrinology*, 322(1), 72-82.

Pesce, L., & Kopp, P. (2014). Iodide transport: implications for health and disease. *International journal of pediatric endocrinology*, 2014(1), 8.

Pretell, E. A. (2014). Eliminación sostenible de los desórdenes por deficiencia de yodo en Latinoamérica. *Lima: Iodine Global Network-UNICEF-OPS*.

Pretell, E. A., Delange, F., Hostalek, U., Corigliano, S., Barreda, L., Higa, A. M., et al. (2004). Iodine nutrition improves in Latin America. *Thyroid*, 14(8), 590-599.

Pretell, E. A., Pearce, E. N., Moreno, S. A., Dary, O., Kupka, R., Gizak, M., et al. (2017). Elimination of iodine deficiency disorders from the Americas: a public health triumph. *Lancet Diabetes Endocrinol.*

Queiruga, G., Queijo, C., Lemes, A., Machado, M., & Garlo, P. (2011). Sistema nacional de pesquisa neonatal en Uruguay. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 9(2).

Raj, S., Baburaj, S., George, J., Abraham, B., & Singh, S. (2014). Cord blood TSH level variations in newborns-Experience from a rural centre in Southern India. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(7), PC18.

Rajatanavin, R. (2007). Iodine deficiency in pregnant women and neonates in Thailand. *Public Health Nutr*, 10(12A), 1602-1605.

Rajatanavin, R., Chailurkit, L. O., Sriprapadaeng, A., Imsoon, L., Sompong, W., Teerarungsikul, K., et al. (1993). Screening for congenital hypothyroidism in Thailand: has its time come? *J Med Assoc Thai*, 76 Suppl 2, 2-8.

Ramos, H. E., Nesi-Franca, S., Boldarine, V. T., Pereira, R. M., Chiamolera, M. I., Camacho, C. P., et al. (2009). Clinical and molecular analysis of thyroid hypoplasia: a population-based approach in southern Brazil. *Thyroid*, 19(1), 61-68.

Rapoport, B., Chazenbalk, G. D., Jaume, J. C., & McLachlan, S. M. (1998). The Thyrotropin (TSH)-Releasing Hormone Receptor: Interaction with TSH and Autoantibodies 1. *Endocrine Reviews*, 19(6), 673-716.

Rasmussen, L. B., Ovesen, L., & Christiansen, E. (1999). Day-to-day and within-day variation in urinary iodine excretion. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 401-407.

Rastogi, M. V., & LaFranchi, S. H. (2010). Congenital hypothyroidism. [journal article]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5(1), 17.

Raverot, V., Bournaud, C., Sassolas, G., Orgiazzi, J., Claustrat, F., Gaucherand, P., et al., (2012). Pregnant French Women Living in the Lyon Area Are Iodine Deficient and Have Elevated Serum Thyroglobulin Concentrations. *THYROID*. 22(5). doi: 10.1089/thy.2011.0184.

Refetoff, S. (2015). Thyroid hormone serum transport proteins *Thyroid Diseases Manager* Retrieved May 1, 2017, from <http://www.thyroidmanager.org/chapter/thyroid-hormone-serum-transport-proteins-2/>.

Reuss, M. L., Paneth, N., Lorenz, J. M., & Susser, M. (1997). Correlates of low thyroxine values at newborn screening among infants born before 32 weeks gestation. *Early Hum Dev*, 47(2), 223-233.

Ris-Stalpers, C., & Bikker, H. (2010). Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations. *Molecular and cellular endocrinology*, 322(1), 38-43.

Ris-Stalpers, C., & Bikker, H. (2010). Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations. *Mol Cell Endocrinol*, 322(1-2), 38-43.

Robinson, H. A. (2007, september 16-19). *Experience of the neonatal screening for congenital hypothyroidism using the SUMA's technology in Arauca (Colombia)*. Paper presented at the VI Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal, Punta del Este (Uruguay).

Rodrigues, C., Jorge, P., Soares, J. P., Santos, I., Salomao, R., Madeira, M., et al. (2005). Mutation screening of the thyroid peroxidase gene in a cohort of 55 Portuguese patients with congenital hypothyroidism. *European Journal of Endocrinology*, 152(2), 193-198.

Saglam, H., Buyukuysal, L., Koksai, N., Ercan, I., & Tarim, O. (2007). Increased incidence of congenital hypothyroidism due to iodine deficiency. *Pediatr Int*, 49(1), 76-79.

Salvatore, D., Davies, T. F., Schulumberger, M. J., Hay, I. D., & Larsen, P. R. (2017). Thyroid Physiology and Diagnostic Evaluation of Patients With Thyroid Disorders.

Sava, L., Tomaselli, L., Runello, F., Belfiore, A., & Vigneri, R. (1986). Serum thyroglobulin levels are elevated in newborns from iodine-deficient areas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 62(2), 429-432.

Segni, M. (2017). Disorders of the Thyroid Gland in Infancy, Childhood and Adolescence. *Thyroid Disease Manager* Retrieved april 30, 2017, from <http://www.thyroidmanager.org/chapter/disorders-of-the-thyroid-gland-in-infancy-childhood-and-adolescence/>

Seth, A., Sekhri, T., & Agarwal, A. (2007). Effect of perinatal factors on cord blood thyroid stimulating hormone levels. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 20(1), 59-64.

Spindler, S. R., Mellon, S. H., & Baxter, J. D. (1982). Growth hormone gene transcription is regulated by thyroid and glucocorticoid hormones in cultured rat pituitary tumor cells. *J Biol Chem*, 257(19), 11627-11632.

Stanbury, J. B. (2008). *The Iodine Trail: Exploring Iodine Deficiency and Its Prevention Around the World*. New Delhi: Oxford University Press.

Skeaff S, Thomson Ch, Wilson N, Parnell W, A comprehensive assessment of urinary iodine concentration and thyroid hormones in New Zealand schoolchildren: a cross-sectional study. *Nutrition Journal* 2012;11:31.

Stinca, S., Andersson, M., Weibel S., Aeberli-Herter, I., Fingerhut, R., Gowachirapant, S., (2016) Dried blood spot thyroglobulin as a biomarker of iodine status in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab*. doi:10.1210/jc2016-2829.

Swanson, J. A., & Berseth, C. L. (1987). Continuing care for the preterm infant after dismissal from the neonatal intensive care unit. *Mayo Clin Proc*, 62(7), 613-622.

Targovnik, H. (2014). Importance of molecular genetic analysis in the diagnostic and classification of congenital hypothyroidism. *Endocrine Reviews*, 45, 163-164.

Therrell, B. L., Padilla, C. D., Loeber, J. G., Kneisser, I., Saadallah, A. A., Borrajo, G. J. C., et al. (2015). *Current status of newborn screening worldwide: 2015*. Paper presented at the Seminars in perinatology.

Tomer Y, Davies TF. (2003). Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. *Endocr Rev.*; 24(5): 694-717.

Treviño, J., Calle, A., Rodríguez-Frade, J. M., Mellado, M., & Lechuga, L. M. (2009). Surface plasmon resonance immunoassay analysis of pituitary hormones in urine and serum samples. *Clin Chim Acta*, 403(1-2), 56-62.

Tylek-Lemanska, D., Rybakowa, M., Kumorowicz-Kopiec, M., Działkowiak, H., & Ratajczak, R. (2003). Iodine deficiency disorders incidence in neonates based on the experience with mass screening for congenital hypothyroidism in southeast Poland in the years 1985-2000. *J Endocrinol Invest*, 26(2 Suppl), 32-38.

Vela, M., Gamboa, S., Pérez-Andade, M., Ortiz, J., Conzález, C., & Ortega, V. (2004). Epidemiología del hipotiroidismo congénito en México. *Salud Pública México*, 46(2), 141-148.

Vela, M., Ibarra, I., Rodríguez, G., Chable, G., Avila, C., Evaristo, M., et al. (2009). Optimización del tiempo de diagnóstico del hipotiroidismo congénito en el Estado de Tabasco, México. *Salud en Tabasco*, 15(1), 823-827.

Velasco, I., Carreira, M., Santiago, P., Muela, J. A., Garcia-Fuentes, E., Sanchez-Munoz, B., et al. (2009). Effect of iodine prophylaxis during pregnancy on neurocognitive development of children during the first two years of life. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(9), 3234-3241.

Vigone, M. C., Caiulo, S., Di Frenna, M., Ghirardello, S., Corbetta, C., Mosca, F., et al. (2014). Evolution of thyroid function in preterm infants detected by screening for congenital hypothyroidism. *The Journal of pediatrics*, 164(6), 1296-1302.

Walfish, P. G. (1976). Evaluation of three thyroid-function screening tests for detecting neonatal hypothyroidism. *Lancet*, 1(7971), 1208-1210.

Wang, S. T., Pizzolato, S., & Demshar, H. P. (1998). Diagnostic effectiveness of TSH screening and of T4 with secondary TSH screening for newborn congenital hypothyroidism. *Clinica Chimica Acta* 274, 151-158.

WHO, I., UNICEF. (2007). Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers. Third edition. Third Retrieved March 10, 2017, from http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43781/1/9789241595827_eng.pdf

Wilson, J. M., & Jungner, Y. G. (1968). [Principles and practice of mass screening for disease]. *Bol Oficina Sanit Panam*, 65(4), 281-393.

World Health, O. (1996). *Trace elements in human nutrition and health*: World Health Organization.

World Health Organization, I. C. f. C. o. I. D. D., Unicef. (2001). *Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers* (Second ed.).

Zabransky, S. (1976). [Screening of newborn infants for hypothyroidism using the determination of thyrotropin in umbilical cord blood]. *Monatsschr Kinderheilkd*, 129(9), 662-663.

Zarina, A. L., Rahmah, R., Bador, K. M., Ng, S. F., & Wu, L. L. (2008). Audit of newborn screening programme for congenital hypothyroidism. *The Medical journal of Malaysia*, 63(4), 325-328.

Zimmermann, M. B. (2008). Methods to assess iron and iodine status. *Br J Nutr*, 99 Suppl 3, S2-9.

Zimmermann, M. B. (2009a). Iodine deficiency. *Endocrine reviews*, 30(4), 376-408.

Zimmermann, M. B. (2009b). Iodine deficiency in pregnancy and the effects of maternal iodine supplementation on the offspring: a review. *Am J Clin Nutr*, 89(2), 668S-672S.

Zimmermann, M. B., & Andersson, M. (2012). Update on iodine status worldwide. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 19(5), 382-387.

Zimmermann, M. B., Hess, S. Y., Molinari, L., de Benoist, B., Delange, F., Braverman, L. E., et al. (2004). New reference values for thyroid volume by ultrasound in iodine-sufficient schoolchildren: a World Health Organization/Nutrition for Health and Development Iodine Deficiency Study Group Report. *The American journal of clinical nutrition*, 79(2), 231-237.

Zimmermann, M. B., Jooste, P. L., & Pandav, C. S. (2008). Iodine-deficiency disorders. *Lancet*, 372(9645), 1251-1262.

Zimmermann, M. B., Molinari, L., Spehl, M., Weidinger-Toth, J., Podoba, J., Hess, S., et al. (2001). Toward a consensus on reference values for thyroid volume in iodine-replete schoolchildren: results of a workshop on inter-observer and inter-equipment variation in sonographic measurement of thyroid volume. *European journal of endocrinology*, 144(3), 213-220.

Zimmermann M, Aeberli I, Anderson M, Assey V, Jara J, Jooste P. Thyroglobulin Is a Sensitive Measure of Both Deficient and Excess Iodine Intakes in Children and Indicates No Adverse Effects on Thyroid Function in the UIC Range of 100-299 Ug/L: A UNICEF/ICCIDD Study Group Report. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(3):1271-1280.

Zumaeta, R., Lucén, A., Zamora, L., Lujan, C., Aranibar, B., Ayala, B., et al. (2007, september 16-19). *Characteristics of newborns with congenital hypothyroidism*. Paper presented at the VI Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal, Punta del Este (Uruguay).

VIII. Anexos

Anexo I: Hoja de recolección de información de los datos del tamizaje
Título del estudio: Hipotiroidismo Congénito.

Analítica
TSH cordón
TSH sérica
TT4
TT3
Tg

Ecografía de tiroides

Volumen tiroideo: _____

Homogeneidad	SI__	NO__
Ecogenicidad	SI__	NO__
Anomalías tejidos adyacentes	SI__	NO__

Anexo II. Consentimiento informado general padres (tutores)

Título del estudio: Clasificación etiológica y Caracterización Molecular del Hipotiroidismo Congénito en Nicaragua.

Investigador: Aura Fúnez Ríos

INTRODUCCION

Nos dirigimos a ud. Para informarle sobre el estudio de investigación que se les realizará a los niños con hipotiroidismo congénito, diagnosticado en el programa de tamizaje neonatal para HC que se desarrolla en 12 hospitales de Nicaragua.

Por lo que le pediremos que lea con atención esta hoja informativa y nosotros le aclararemos las dudas que tenga después de la explicación.

Su participación es totalmente voluntaria. Tiene derecho a negarse a participar, o no continuar con su participación en cualquier momento, sin constituir esto un problema.

Usted puede solicitarnos información o aclarar sus dudas en cualquier momento, respecto al desarrollo de esta investigación.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

El estudio genético nos permitirá conocer la etiológica del HC, por lo que es motivo de investigar.

Durante el estudio se realizaran las siguientes evaluaciones

La extracción de aproximadamente 5 ml de sangre, para la realización del estudio genético de los pacientes y familiares.

La determinación del tamaño del tiroides y la detección de posibles alteraciones anatómicas de dicha glándula mediante la realización de una ecografía cervical

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN LA INVESTIGACION.

Para evitarle molestias a su hijo(a) y a ud., nosotros intentaremos que las extracciones de sangre se realicen por personal competente.

El estudio genético nos ayudará para consejo de las familias sobre sus futuros hijos.

La realización de la ecografía tiroidea está exenta de radiación y es inocua para cualquier persona.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos recolectados para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el investigador y colaboradores del estudio podrán relacionar dichos datos con usted.

El acceso a su información personal quedará restringido al investigador del Estudio y colaboradores.

Consentimiento informado

Yo. Sr/Sra _____ (nombre y apellido del padre/madre/tutor, con domicilio en _____ y número de cédula _____) doy fe que:

He leído la información sobre el estudio.

He realizado preguntas al investigador y se me han contestado.

Participo de manera voluntaria en el estudio

Tengo la potestad a negarme a participar o de poder retirarme en el momento deseado, sin que ello dañe de alguna manera mi integridad.

Por el presente permito la participación de mi hijo/a _____ (nombre y apellido), con diagnóstico de HC en el Programa de tamizaje neonatal de HC de la Facultad de ciencias Médicas de la UNAN-León, que se tome una muestra de sangre al niño/niña para la realización de un estudio genético de la enfermedad. Así como una muestra mia.

Este estudio solamente será uso exclusivo para la investigación etiológica de esta enfermedad.

Firma del padre/madre/tutor _____ Firma del investigador _____

Nombre:

Nombre:

Fecha: _____

Anexo III Consentimiento informado general madres

Título del estudio: Evaluación del estado nutricional del yodo en mujeres embarazadas, recién nacidos y niños en Nicaragua mediante medición de yodo en orina, Tiroglobulina y tirotropina en sangre del cordón umbilical.

Investigador: Aura Fúnez Ríos

INTRODUCCION

Nos dirigimos a ud. Para informarle sobre el estudio de investigación que se les realizará a mujeres embarazadas y sus neonatos que acuden al Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello. Este estudio fue aprobado por el comité de ética del hospital.

Por lo que le pediremos que lea con atención esta hoja informativa y nosotros le aclararemos las dudas que tenga después de la explicación.

Su participación es totalmente voluntaria. Tiene derecho a negarse a participar, o no continuar con su participación en cualquier momento, sin constituir esto un problema.

Usted puede solicitarnos información o aclarar sus dudas en cualquier momento, respecto al desarrollo de esta investigación.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

El yodo es un oligoelemento esencial para la síntesis de hormonas tiroideas y cuyo déficit o exceso altera de manera significativa el funcionamiento de la glándula tiroidea. Este oligoelemento es necesario para la síntesis de hormonas tiroideas imprescindibles durante la etapa de gestación para el desarrollo del sistema nervioso central del feto y el recién nacido.

El propósito del estudio es investigar si la población de gestantes, está adecuadamente nutrida de este oligoelemento, o si tiene déficit o exceso del mismo. Nosotros estudiaremos a las gestantes que asisten al hospital para valorar el estado nutricional de yodo que se analiza en la orina y la función tiroidea de sus neonatos que se valora midiendo TSH y Tg en suero del cordón.

Durante el estudio se realizaran las siguientes evaluaciones

La extracción de aproximadamente 5 ml de sangre del cordón del neonato para la valoración de TSH y Tg.

Tomar 15 ml de orina a las gestantes para valoración de las concentraciones de yodo en orina

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN LA

INVESTIGACION.

Esta investigación no implica ningún tipo de riesgo, sin embargo, su participación dará valiosos aportes que ayudaran a prevenir casos futuros de estos trastornos.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos recolectados para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el investigador y colaboradores del estudio podrán relacionar dichos datos con usted.

El acceso a su información personal quedará restringido al investigador del Estudio y colaboradores.

Los resultados de este estudio podrán ser publicados en documentos científicos, pero solo como información conjunta, de manera que no se podrá obtener la información de ningún individuo en particular.

Consentimiento informado

Yo. Sr/Sra _____ (nombre y apellido de la madre, con domicilio en _____ y número de cédula _____) doy fe que:

He leído la información sobre el estudio.

He realizado preguntas al investigador y se me han contestado.

Participo de manera voluntaria en el estudio

Tengo la potestad a negarme a participar o de poder retirarme en el momento deseado, sin que ello dañe de alguna manera mi integridad.

Por el presente permito mi participación y la de mi hijo/a, que se me tome una muestra de orina y muestra de sangre del cordón al niño/niña para la investigación del estado nutricional de yodo.

Este estudio solamente será uso exclusivo para la investigación del estado nutricional de yodo.

Firma de la madre _____

Nombre:

Firma del investigador _____

Nombre:

Fecha

Anexo IV: Consentimiento informado general madres/padres/tutores

Título del estudio: Evaluación del estado nutricional del yodo en niños escolares en Nicaragua mediante medición de yodo en orina.

Investigador: Aura Fúnez Ríos

INTRODUCCION

Nos dirigimos a ud. Para informarle sobre el estudio de investigación que se les realizará a niños entre las edades de 3-7 años que asisten a la escuela Rubén Darío.

Por lo que le pediremos que lea con atención esta hoja informativa y nosotros le aclararemos las dudas que tenga después de la explicación.

Su participación es totalmente voluntaria. Tiene derecho a negarse a participar, o no continuar con su participación en cualquier momento, sin constituir esto un problema.

Usted puede solicitarnos información o aclarar sus dudas en cualquier momento, respecto al desarrollo de esta investigación.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

El yodo es un oligoelemento esencial para la síntesis de hormonas tiroideas y cuyo déficit o exceso altera de manera significativa el funcionamiento de la glándula tiroidea. Este oligoelemento es necesario para la síntesis de hormonas tiroideas imprescindibles durante la etapa del desarrollo y crecimiento de los niños.

El propósito del estudio es investigar si la población de escolares, está adecuadamente nutrida de este oligoelemento, o si tiene déficit o exceso del mismo. Nosotros estudiaremos a los niños que asisten a la escuela para valorar el estado nutricional de yodo, que se analiza en la orina.

Durante el estudio se realizaran las siguientes evaluaciones

Tomar 15 ml de orina a los niños para valoración de las concentraciones de yodo en orina

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN LA INVESTIGACION.

Esta investigación no implica ningún tipo de riesgo, sin embargo, su participación dará valiosos aportes que ayudaran a prevenir casos futuros de estos trastornos.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos recolectados para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el investigador y colaboradores del estudio podrán relacionar dichos datos con usted.

El acceso a su información personal quedará restringido al investigador del Estudio y colaboradores.

Los resultados de este estudio podrán ser publicados en documentos científicos, pero solo como información conjunta, de manera que no se podrá obtener la información de ningún individuo en particular.

Consentimiento informado

Yo. Sr/Sra _____ (nombre y apellido de la madre/padre/tutor, con domicilio en _____ y número de cédula _____) doy fe que:

He leído la información sobre el estudio.

He realizado preguntas al investigador y se me han contestado.

Participo de manera voluntaria en el estudio

Tengo la potestad a negarme a participar o de poder retirarme en el momento deseado, sin que ello dañe de alguna manera mi integridad.

Por el presente permito la participación de mi hijo/a, que se me tome una muestra de orina a mi hijo/a para la investigación del estado nutricional de yodo.

Este estudio solamente será uso exclusivo para la investigación del estado nutricional de yodo.

Firma de la madre/padre/tutor _____	Firma del investigador _____
Nombre:	Nombre:

Fecha